HAL
open science

Vulnérabilité des sols méditerranéens aux incendies récurrents et restauration de leurs qualités chimiques et microbiologiques par des apports de composts

René Guénon

To cite this version:

René Guénon. Vulnérabilité des sols méditerranéens aux incendies récurrents et restauration de leurs qualités chimiques et microbiologiques par des apports de composts. Ecologie, Environnement. Université Paul Cézanne - Aix-Marseille III, 2010. Français. NNT : . tel-00555463

HAL Id: tel-00555463

https://theses.hal.science/tel-00555463v1

Submitted on 13 Jan 2011

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.

N° 2010AIX30043

UNIVERSITÉ PAUL CÉZANNE AIX-MARSEILLE III

VULNÉRABILITÉ DES SOLS MÉDITERRANÉENS AUX INCENDIES RÉCURRENTS ET RESTAURATION DE LEURS QUALITÉS CHIMIQUES ET MICROBIOLOGIQUES PAR L'APPORT DE COMPOSTS

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PAUL CÉZANNE

Faculté des Sciences et Techniques

Discipline : Biosciences de l'Environnement

Ecole doctorale : Sciences de l'Environnement

Soutenue publiquement le 17 décembre 2010 par

René GUÉNON

JURY

Mme C. RUMPEL	Directeur de Recherche CNRS, Thiverval-Grignon	Rapporteur
M^{r} J-L CHOTTE	Directeur de Recherche IRD, Montpellier	Rapporteur
Mr S. ROUSSOS	Directeur de Recherche IRD, Marseille	Directeur
Mr R. GROS	Maître de Conférences IMEP, Marseille	Co-Directeur
Mr A. BISPO	Ingénieur ADEME, Angers	Examinateur
Mr M. VENNETIER	Ingénieur CEMAGREF, Aix en Provence	Examinateur
Mr T. TATONI	Professeur IMEP, Marseille	Président

Marseille, 2010

Remerciements

Je remercie tout d'abord les membres de mon jury et notamment les deux rapporteurs Mme Cornélia Rumpel et Mr Jean-Luc Chotte pour avoir accepté d'évaluer ce travail de recherche.

Je voudrais également remercier Mr Antonio Bispo de l'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME), ingénieur responsable de cette thèse, Mr Bernard Vigne responsable du Pôle Déchets ADEME PACA et le Conseil Régional Provence-Alpes-Côtes d'Azur (PACA) pour leur soutien financier.

Merci à Mr Thierry Tatoni, directeur de l'IMEP pour m'avoir accueilli dans sa structure et Mr Sevastianos Roussos pour avoir accepté d'être co-directeur de cette thèse.

Je tiens à adresser mes plus vifs remerciements à mon chef Raphaël Gros, Maître (suprême) de Conférences qui a investi pas loin de 6 années pour me former à la recherche. Tu as partagé tes connaissances, ton savoir statistique et surtout un de tes deux yeux bioniques qui, je suis sûr me servira à l'avenir. J'essaierai de me rappeler tes conseils. Encore un grand Merci!

Je remercie par la suite toutes les petites mains qui ont permis de mener à bien les plans d'expériences gigantesques de cette thèse à la fois sur le terrain et en laboratoire: Mélanie Carrara, Ali Bourguiba, Alexia Pailler, Benoit Turin et Laura Delaye. Une spéciale dédicace à Flo qui m'a assisté pratiquement tout le temps. Un vrai bras droit… voire aussi le gauche. Encore merci !

Je remercie Mr Ridele-Berger du SIVED dont les efforts n'ont malheureusement pas permis de pallier à temps aux difficultés techniques du procédé pilote CESAM. Je remercie Mr Claude Nervi de la société Biotechna pour m'avoir fourni très rapidement le matériel nécessaire pour la partie compost de ce projet.

Je remercie Mr Michel Vennetier pour m'avoir fait profiter du projet IRISE et de ses connaissances du terrain. Je remercie Mme Nathalie Dupuy et Mr Fabio Ziarelli pour m'avoir initié aux techniques spectroscopiques.

Je remercie tous les membres de l'Equipe d'Ecologie Microbienne avec qui j'ai passé toutes ces années ! Merci à Stéven, Elisée, et Anne-Marie et dernièrement Daniel pour leurs conseils. Merci à ma (autoproclamée) « Marraine ADEME » Carine Floch sans qui nous n'aurions pas tant rigolé. Merci également pour tous les bons moments passés entre apprentis chercheurs.

Je remercie évidemment toute ma famille qui ma soutenu tout au long de cette rude épreuve qu'est la thèse. Merci à ma mère et mon frère pour la correction des fautes d'orthographe, à ma sœur pour les corrections d'anglais (malheureusement il reste encore des articles à publier).

Je remercie Avryl ma tendre et bien aimée simplement pour son amour et la splendide petite fille qu'elle nous a donnée : Clémence

Table des matières

Introduction générale **1**

Chapitre 1. Synthèse bibliographique

1.1. Incendies en région méditerranéenne **9**

1.1.1. Le paradoxe du feu 9

1.1.2. Origines des feux et facteurs de propagation 10

1.1.3. Les successions végétales méditerranéennes post-incendies 11

1.1.4. Effets des incendies sur les propriétés des sols 15

1.1.4.1. Effets du feu sur la matière organique (MO) 15

1.1.4.2. Effets du feu sur la disponibilité des nutriments 18

1.1.4.3. Effets du feu sur les propriétés physiques des sols 19

1.1.4.4. Effets du feu sur les communautés microbiennes et leurs activités 20

1.1.4.5. Effets des feux répétés sur les communautés microbiennes et leurs activités 23

1.2. Origine, diversité et vulnérabilité des sols méditerranéens **24**

1.2.1. Origine et diversité des sols méditerranéens 24

1.2.2. Vulnérabilité des sols méditerranéens 25

1.2.2.1. Dynamique de retour des communautés microbiennes et de leur fonctionnement après feu 27

1.2.2.2. Résistance et résilience des fonctions éco-systémiques des sols méditerranéens face à des stress environnementaux 28

1.3. Restauration de la qualité des sols **32**

1.3.1. Concept de qualité des sols 32

1.3.1.1. La qualité chimique des sols 34

1.3.1.2. La qualité physique des sols 34

1.3.1.3. La qualité biologique des sols 35

1.3.2. Définitions et concepts utilisés en restauration écologique 36

1.3.3. Restauration de la qualité des sols 40

1.3.3.1. Restauration de la qualité des sols incendiés par l'apport de compost 41

1.3.3.2. Restauration de la qualité chimique des sols incendiés 42

1.3.3.3. Restauration de la qualité physique des sols incendiés 42

1.3.3.4. Restauration de la qualité biologique des sols incendiés 43

1.4. Synthèse et conclusions de l'étude bibliographique **44**

Chapitre 2. Matériels et Méthodes

2.1. Zone d'étude **46**

2.2. Parcelles d'étude : histoire d'incendie, caractéristiques générales et échantillonnage 48
2.3. Analyses physico-chimiques des sols 53
2.3.1. Humidité gravimétrique et teneur en eau à la capacité au champ 53
2.3.2. Mesure du pH 53
2.3.3. Teneurs en carbone organique total, azote total et matière organique 53
2.3.4. Dosages de l'azote ammoniacal et nitrique 54
2.3.5. Dosages du phosphore total, organique et minéral 54
2.3.6. Analyse spectrométrique des sols par Résonance Magnétique Nucléaire solide du ^{13}C 55
2.3.7. Analyse spectrométrique des sols dans le proche infrarouge 58
2.3.8. Analyse spectrométrique des sols dans le moyen infrarouge 60
2.4. Analyses microbiologiques 63
2.4.1. Respiration basale et biomasse microbienne 63
2.4.2. Profils cataboliques des communautés microbiennes cultivables 64
2.4.3. Activités enzymatiques 65
2.4.3.1. Mesure de l'activité des hydrolases du diacétate de fluorescéine (FDAse) 65
2.4.3.2. Mesure de l'activité des β-glucosidases (β-Glu) 65
2.4.3.3. Mesure de l'activité des phosphomonoestérases acides (Pma) et alcalines (Pmb) 66
2.4.3.4. Mesure de l'activité des uréases (Ur) 66
2.4.3.5. Mesure de l'activité des phénol-oxydases (PO) 67
2.4.3.6. Mesure de l'activité des cellulases (Cel) 67
2.4.4. Ammonification et nitrification nette, minéralisation nette de l'azote 67
2.4.5. Minéralisation nette du phosphore 68
2.5. Traitements statistiques 69
2.5.1. Tests d'hypothèses et de comparaisons de moyennes 69
2.5.2. Analyses en composantes principales (ACP) et tests de comparaison des groupes 69
2.5.3. Analyse de redondance 69
2.5.4. Analyses de Co-inertie 70
2.5.4. Analyses de regressions 70

Chapitre 3. Dynamiques de retour des propriétés édaphiques après les feux

3.1. Introduction 73
3.2. Materials and methods 75
3.2.1. Study area, wildfire history and soil sampling 75
3.2.2. Soil chemical and FT-MIR spectroscopic properties 78
3.2.3. Microbial biomass 79
3.2.4. Net ammonification and nitrification 79

3.2.5. Soil microbial C-substrate utilisation profiles and enzyme activities 80
3.2.6. Statistical analyses 81
3.3. Results 83
3.3.1. Wildfire regime effects on recovery of soil chemical properties 83
3.3.2. Wildfire regime effects on recovery of soil microbial activities 85
3.3.3. Relationships between soil microbial activities and chemical properties 88
3.4. Discussion 92
3.4.1. Recovery of soil chemical properties 92
3.4.2. Recovery of soil microbial properties 94
3.5. Conclusion 96

Chapitre 4. Equilibre entre histoire d'incendies et les propriétés du sol : Recherche du point de rupture et des écosystèmes de référence

4.1. Introduction 99
4.2. Materials and methods 100
4.2.1. Study area 100
4.2.2. Wildfire history mapping, soil sampling and wildfire history index 101
4.2.3. Soil organic matter content and quality by solid-state ^{13}C CP/MAS NMR 104
4.2.4. Soil microbial properties 105
4.2.5. Fourier Transform Near Infrared spectroscopy 107
4.2.6. Statistical analysis 107
4.3. Results 108
4.3.1. Wildfire History Index (WHI) parameterisation and computation 108
4.3.2. Soil organic matter content and quality by solid state ^{13}C-NMR spectroscopy 111
4.3.3. Soil microbial properties 113
4.3.4. Relationships between soil microbial properties and soil organic matter quality (SOM) 115
4.3.5. Predictability of microbial properties and wildfire parameters by FT-NIR spectroscopy 116
4.4. Discussion 118
4.4.1. Wildfire history index 118
4.4.2. Changes in chemical functions of soil organic matter along WHI 119
4.4.3. Changes in soil microbial properties along WHI and drivers 122
4.4.4. Predictions by FT-NIR spectroscopy 124
4.5. Conclusions 125

Chapitre 5. Stabilité des fonctions microbiennes aux stress hydriques

5.1. Introduction 126
5.2. Matériels et méthodes 129
5.2.1. Régimes d'incendie étudiés 129
5.2.2. Expérimentations de laboratoire pour évaluer la stabilité microbienne 130
5.2.3. Mesure des activités microbiennes 131
5.2.4. Mesure des propriétés chimiques des sols 132
5.2.5. Analyses statistiques 133
5.3. Résultats 133
5.3.1. Effets des stress hydriques sur les propriétés chimiques des sols non fertilisés 133
5.3.2. Effets des stress hydriques sur les activités respiratoires et cataboliques microbiennes des sols non fertilisés 134
5.3.3. Caractéristiques chimiques et microbiologiques après l'apport expérimental de cellulose et d'azote inorganique 136
5.3.4. Modulations de la stabilité des activités respiratoires et de la diversité catabolique par le régime d'incendie, l'apport de ressources et le régime de stress. 137
5.3.5. Modulations de la stabilité des activités enzymatiques par le régime d'incendie, l'apport de ressources et le régime de stress 141
5.4. Discussion 146
5.4.1. Effets des cycles de dessiccation/humectation sur les fonctions cataboliques microbiennes des sols non fertilisés 146
5.4.2. Effets de l'histoire d'incendie sur la stabilité microbienne aux stress hydriques 149
5.4.3. Effets de l'apport de ressources sur la stabilité microbienne aux stress hydriques 151
5.5. Conclusions 154

Chapitre 6. Restauration des sols incendiés par des apports de composts

6.1. Introduction 155
6.2. Matériels et méthodes 157
6.2.1. Régimes d'incendies étudiés 157
6.2.2. Origine, choix et caractéristiques des composts utilisés 158
6.2.3. Mise en place de l'expérimentation *in situ* d'apport de compost et prélèvements 162
6.2.4. Analyses physico-chimiques des sols 163
6.2.5. Analyses microbiologiques des sols 163
6.2.6. Analyses statistiques 164
6.3. Résultats 165
6.3.1. Effets des composts sur les propriétés physico-chimiques et microbiologiques des sols récemment incendiés 165
6.3.2. Effets de la qualité des composts sur les propriétés physico-chimiques des sols incendiés 168
6.3.3. Effets de la qualité des composts sur les propriétés microbiologiques des sols incendiés 172

6.3.4. Résistance et résilience de la respiration basale soumise à un stress hydrique 176

6.4. Discussion 177

6.4.1. Effets de l'apport de composts sur les propriétés physico-chimiques et microbiologiques d'un sol récemment incendié 177

6.4.2. Effets de la maturité des composts sur les propriétés physico-chimiques et microbiologiques des sols 179

6.4.3. Effets interactifs de la maturité des composts et du régime d'incendie sur les propriétés physico-chimiques et microbiologiques des sols 180

6.4.4. Résistance et résilience de la respiration basale soumise à un stress hydrique 182

6.5. Conclusions 183

Chapitre 7. Synthèse et discussion générale

7.1. Vulnérabilité des écosystèmes méditerranéens aux perturbations et stress récurrents : rôle de la ressource 186

7.2. Pertinence de la démarche et des indicateurs retenus pour étudier l'évolution de la qualité des sols incendiés 190

7.3. Efficacité de restauration de la qualité des sols incendiés 193

Conclusion générale 195

Références bibliographiques 196

Table des illustrations

Figure I.1 : Probabilité d'augmentation des surfaces incendiées et de la fréquence d'incendies…… 2
Figure I.2 : Hypothèses de travail sur la vulnérabilité du fonctionnement microbien (i.e. dynamique de retour et stabilité) face à l'augmentation de la récurrence d'incendies combinée à des stress environnementaux additionnels (i.e. stress hydriques)…… 4
Figure 1.1 : Causes principales des feux en Europe (Catry *et al.*, 2009)……..……11
Figure 1.2 : Synthèse schématique de la dynamique de la végétation en Provence calcaire (Tatoni, 1994)……...14
Figure 1.3 : Processus hypothétiques de transformations de la matière organique d'un sol méditerranéen sous chênaie après un incendie sévère (Almendros *et al.*, 1990)……..……..17
Figure 1.4 : Modèle conceptuel des effets du feu sur les écosystèmes forestiers (Hart *et al.*, 2005)……...20
Figure 1.5 : Modèle théorique illustrant les concepts de résistance et de résilience après une perturbation (Pickett et White, 1985)……...…..30
Figure 1.6 : Modèle général décrivant les processus de dégradation / restauration des écosystèmes et définissant différents concepts (Aronson *et al.*, 1993 modifié par Buisson, 2005)……..…….37
Figure 1.7 : Illustration schématique du syndrome de la cible mouvante (d'après Harris et Van Diggelen, 2006)…….…….39
Figure 1.8 : Schéma de liaison entre la 'Soil Ecological Knowledge' (SEK) et les modèles théoriques existant de la restauration des écosystèmes (Heneghan *et al.*, 2008)……...……..40
Figure 2.1 : Localisation géographique du massif de Maures (délimitation en blanc) et de la zone d'étude (délimitation en rouge)……...……47
Figure 2.2 : Localisation des parcelles d'étude dans le massif des Maures (Vennetier *et al.*, 2008)……..……49
Figure 2.3: Illustration photographique des parcelles caractéristiques de chaque modalité qualitative de régime d'incendie…….……..52
Figure 2.4 : Spectres RMN ^{13}C d'un échantillon de sol brut (a) et d'un échantillon de sol traité aux acides fluorhydrique et chlorhydrique (b)…….……..56
Figure 2.5 : Spectre CPMAS RMN du ^{13}C d'un sol du massif des Maures. Le spectre est subdivisé en 7 régions correspondantes à des structures carbonées spécifiques……....57
Figure 2.6 : Exemple d'un spectre MIR et attribution des principaux pics……..……....62
Figure 2.7 : Substrats carbonés disponibles dans une plaque BIOLOG® ECO et leur code pour une lecture simplifiée des résultats……..……..64
Figure 3.1: Net ammonification (a) and net nitrification (b) of not burned soils (NB-57yrs), infrequent (IB-4yrs and IB-17yrs) and frequent (FB-4yrs and FB-17yrs) wildfire regimes. Means with the same letters were not significantly different at P<0.05 (LSD test); Vertical bars are standard deviations. *** indicate a significant ANOVA test at P<0.001……..….85
Figure 3.2: Factorial map (PC1×PC2) (a) and correlation circle (b) obtained from principal component analysis on microbial C-substrate utilisation profiles of not burned soils (NB-57yrs), infrequent (IB-4yrs and IB-17yrs) and frequent (FB-4yrs and FB-17yrs) wildfire regimes. *A2: β-methyl-D-glucoside ; A3: D-galactonic acid γ-lactone; A4: L-arginine; B1: pyruvic acid methyl ester; B2: D-xylose; B3: D-galacturonic acid; B4: L-asparagine; C1: tween 40; C2: i-erythritol; C3: 2-hydroxy benzoic acid; C4: L-phenylalanine; D1: tween 80; D2: D-mannitol; D3: 4-hydroxybenzoic acid; D4: L-Serine; E1: α-cyclodextrin; E2: N-acetyl-D-glucosamine; E3: γ-hydroxybutyric acid ; E4: L-threonine; F1: glycogen; F2: D-glucosaminic acid; F3: itaconic acid; F4: glycyl-L-glutamic acid; G1: D-cellobiose; G2: glucose-1-phosphate; G3: α-ketobutyric acid; G4: phenylethyl amine; H1: α-D-lactose; H2: D,L α-glycerol phosphate; H3: D-malic acid; H4: putrescine.* Substrates in bold had correlation coefficient higher or equal to 0.5. Bars represent standard errors…….…..……86
Figure 3.3: Activities of FDA hydrolase (a), β-glucosidase (b), acid (AcP) and alkaline (AlP) phosphomonoesterases (c), and phenol oxidase (d) of not burned soils (NB-57yrs), infrequent (IB-4yrs and IB-17yrs) and frequent (FB-4yrs and FB-17yrs) wildfire regimes. Means with the same letters

were not significantly different at P<0.05 (LSD test); vertical bars are standard deviations. *, **, *** indicate a significant ANOVA test at respectively P<0.05, P<0.01 and P<0.001……..…….……87
Figure 3.4: Microbial biomass of not burned soils (NB-57yrs), infrequent (IB-4yrs and IB-17yrs) and frequent (FB-4yrs and FB-17yrs) wildfire regimes. Means with the same letters were not significantly different at P<0.05 (LSD test); Vertical bars are standard deviations. ** indicate a significant ANOVA test at P<0.01…….……..88
Figure 3.5: Factorial maps (a) and associated contributions to canonical axes (b) obtained from coinertia analysis between C-substrate utilisation profiles and chemical functions of organic matter using FT-MIR. Treatments are not burned soils (NB-57yrs), infrequently (IB-4yrs and IB-17yrs) and frequently (FB-4yrs and FB-17yrs) burned soils. Bars represent standard errors. The head of arrows represent the ordination of FT-MIR data…….……...……89
Figure 4.1: Simulations in the wildfire history index values by a) an increase of the number of fires alone, b) a decrease of the fire interval alone, c) both number of fires and fire interval variations…….…..……110
Figure 4.2: Soil organic matter content and relative intensity (%) in the solid-state ^{13}C NMR spectra in relation with wildfire history index. F and R^2 values are reported for significant (*, **, *** for respectively P<0.05, P <0.01 and P<0.001) linear and piecewise regressions (n=17). BP= breakpoint……...…..…112
Figure 4.3: Average well colour development (a), microbial catabolic diversity (b), basal respiration (c) and biomass (d) in relation with wildfire history index. F and R^2 values are reported for significant (*, **, *** for respectively P<0.05, P <0.01 and P<0.001) linear and piecewise regressions (n=17). BP= breakpoint…….……113
Figure 4.4: RDA tri-plot of microbial catabolic profiles of soils affected by various WHI (black circles), solid-state ^{13}C NMR signals (black arrows) as explanatory variables and C-substrates (grey arrows). *Alk. Meth.: alkyl C in methylene; Alk. Polymeth.: alkyl C in polymethylene; Methox.: methoxyl C, O-Alk.: O-Alkyl C; Di-O-Alk.: Di-O-alkyl C, Arom.: aromatic C, Phen. 147: phenolic C at 147 ppm; Phen. 153: phenolic C at 153 ppm; Carbox.: carboxyl C. A2: β-methyl-D-glucoside ; A3: D-galactonic acid γ-lactone; A4: L-arginine; B1: pyruvic acid methyl ester; B2: D-xylose; B3: D-galacturonic acid; B4: L-asparagine; C1: tween 40; C2: i-erythritol; C3: 2-hydroxy benzoic acid; C4: L-phenylalanine; D1: tween 80; D2: D-mannitol; D3: 4-hydroxybenzoic acid; D4: L-Serine; E1: α-cyclodextrin; E2: N-acetyl-D-glucosamine; E3: γ-hydroxybutyric acid ; E4: L-threonine; F1: glycogen; F2: D-glucosaminic acid; F3: itaconic acid; F4: glycyl-L-glutamic acid; G1: D-cellobiose; G2: glucose-1-phosphate; G3: α-ketobutyric acid; G4: phenylethyl amine; H1: α-D-lactose; H2: D,L α-glycerol phosphate; H3: D-malic acid; H4: putrescine*…….……...114
Figure 5.1 : Teneurs moyennes (N=17) en ammonium (barres grisée claires) et en nitrate (barres grisées foncées) dans les sols témoins non stressés (T), après 1 cycle D/H (1) et 4 cycles D/H (4). Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs types et les lettres minuscules différentes indiquent une différence significative entre les moyennes (Test LSD)……...…134
Figure 5.2 : Diagramme factoriel (axes 1 et 2) généré par une ACP sur les spectres SPIR des sols non stressés (T), stressés par 1 cycle D/H (1c) et stressés par 4 cycles D/H (4c). Les ronds noirs représentent les coordonnées moyennes des échantillons (N=17) et les barres d'erreurs représentent les erreurs types……..……134
Figure 5.3 : Respirations basales et induites moyennes (N=17) (Figure 5.4A, respectivement barres grisée claires et barres grisées foncées) et quotients métaboliques (Figure 5.4B) des sols témoins non stressés (T), après 1 cycle D/H (1) et 4 cycles D/H (4). Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs types et les lettres minuscules différentes indiquent une différence significative entre les moyennes (Test LSD)……135
Figure 5.4 : Diagramme factoriel (axes 1 et 2) généré par une ACP sur les profils Biolog® des sols non stressés, stressés par 1 cycle D/H et stressés par 4 cycles D/H……..……...…136
Figure 5.5 : Résistance de la RI (a) et résilience de la RI (b). Les barres blanches correspondent aux sols non fertilisés et les grises aux sols fertilisés. L'astérisque (*) indique une différence significative entre moyennes des sols non fertilisés et fertilisés. Les barres verticales représentent les erreurs types……...……...138

Figure 5.6 : Résistance de la Pma (a), de la pmb (b) et résilience de la Pma (c), de la Pmb (d). Les barres blanches correspondent aux sols non fertilisés et les grises aux sols fertilisés. L'astérisque (*) indique une différence significative entre moyennes des sols non fertilisés et fertilisés (p<0,05, test de Student) et les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes (p<0,05, LSD de Fischer). Les barres verticales représentent les erreurs types. ……..……142
Figure 5.7 : Résistance de la Pmb (a), de la FDAse (b), de la cellulase (c) et résilience de la Pmb (d), de la FDAse (e) et de la cellulase (f). Les barres blanches correspondent aux sols non fertilisés et les grises aux sols fertilisés. L'astérisque (*) indique une différence significative entre moyennes des sols non fertilisés et fertilisés et les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes (p<0,05, test de Student). Les barres verticales représentent les erreurs types……..……143
Figure 5.8 : Résistance et résilience des activités phosphomonoesterase alcaline (respectivement a et d), FDA hydrolases (b et e), et cellulases (c et f) à 1 cycle (barres blanches) et 4 cycles de dessiccation/ré-humectation (barres noires). L'astérisque (*) indique une différence significative entre les moyennes à 1 stress et 4 stress hydriques (p<0,05, test de Student) et les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes (p<0,05, LSD de Fischer). Les barres verticales représentent les erreurs types……...…….144
Figure 6.1. : Spectre du moyen infrarouge des 3 composts utilisés de maturité croissante C1 : immature (3 semaines), C2 : moyennement mature (3 mois) et C3 : mature (9 mois)……...….….167
Figure 6.2 : Illustration photographique d'une placette expérimentale d'apport *in situ* de compost…….162
Figure 6.3 : Analyses en composantes principales des spectres MIR des sols FB-2007, FB-2007CP et NB-1950 à T_{5mois} (a) et T_{10mois} (b)…….....163
Figure 6.4. Effet de la qualité des composts utilisés en fonction du temps sur le carbone organique total (a), l'azote total (b), le phosphore total (c), le P minéral (d), les nitrates (e) et le pH (f). Les barres blanches correspondent aux sols de la première campagne de prélèvement (Janvier 2009) et les barres noires à la deuxième (Juin 2009). L'astérisque (*) indique une différence significative entre les moyennes pour une même maturité de compost (p<0,05, test de Student) et les moyennes par campagne de prélèvement avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes (LSD de Fisher). Les barres verticales représentent les erreurs types…….……171
Figure 6.5: Diagramme factoriel obtenu par une analyse en composante principale sur les spectres MIR à T_{10mois} des sols incendiés sans apports (T) et amendés par un compost immature (C1), moyennement mature (C2) ou un très mature (C3)…….……172
Figure 6.6 : Effets des différents composts sur la phosphomonoestérase alcaline en fonction du régime d'incendie 5 et 10 mois après leurs apports (respectivement a et b)……...…….173
Figure 6.7 : Efficacité des différents composts sur la nitrification nette en fonction du régime d'incendie 5 et 10 mois après leurs apports (respectivement a et b)…….……..173
Figure 6.8 : Analyse en composante principale des profils cataboliques des sols incendiés en 1990, 2003 et 2007 avec apport de compost immature (C1), moyennement mature (C2) et un très mature (C3) et sans apport (T) à T_{10mois}……...….175

Liste des tableaux

Tableau 2.1 : Histoire d'incendies et caractéristiques générales des parcelles étudiées……...50
Table 3.1: Wildfire regimes and associated vegetation structure and soil types…….……..77
Table 3.2: Soil chemical properties…….……..84
Table 3.3: Mean relative absorbance of the FT-MIR peaks…….…....84
Table 3.4: Correlation coefficients (r values) between enzyme activities and soil chemical properties and relative intensities of FT-MIR peaks……..……....91
Table 4.1: Plots sampled in this study, together with their geographic location and some soil and vegetation characteristics……..102
Table 4.2: Wildfire history parameters of the plots sampled in 2007, 2008 and 2009……103
Table 4.3: Correlation coefficients (r values) between NMR ^{13}C chemical functions of soil organic matter and microbial properties……...…….116
Table 4.4: variability of microbial variables and fire parameters (N=65)……...……117
Table 4.5: Prediction of microbial properties and wildfire parameters…….…...…117
Tableau 5.1: Caractéristiques chimiques et microbiologiques des sols non fertilisés et fertilisés (moyennes ±erreurs types) …….……..…137
Tableau 5.2: Résultats des ANOVA à 3 facteurs testant l'effet du régime d'incendie, la récurrence de stress hydriques et la disponibilité de la ressource sur la résistance et la résilience des activités microbiennes. ……...……139
Tableau 5.3: Valeurs moyennes (±écart-types) des activités microbiennes sous l'influence des effets principaux du régime de feu, de la récurrence des stress hydriques……....….140
Tableau 6.1: Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des 3 composts utilisés de maturité croissante C1 : immature (3 semaines), C2 : moyennement mature (3 mois) et C3 : mature (9 mois)……...…..160
Tableau 6.2: Effet d'un apport de compost sur les propriétés physico-chimiques et microbiologiques des sols incendiés en 2007 et comparaison aux sols non brûlés au moins depuis 1950……...…167
Tableau 6.3: Relations entre les propriétés physico-chimiques, la biomasse microbienne et les activités microbiennes évaluées par des régressions multiples pas à pas…….……168
Tableau 6.4: ANOVA à 3 facteurs testant l'effet du régime de d'incendie (I), la qualité du compost (C) et le temps depuis l'apport de compost (T) et des interactions sur 2 niveaux sur les variables physico-chimiques et microbiologiques des sols……..……..……..170
Tableau 6.5: Effets de la qualité du compost (C) et du temps depuis l'apport de compost (T) sur les variables physico-chimiques et microbiologiques des sols……...……..…174
Tableau 6.6: Relations entre les propriétés physico-chimiques, la biomasse microbienne et les activités microbiennes évaluées par des régressions multiples pas à pas……...…176
Tableau 6.7: Effet de la qualité d'un compost et du régime d'incendie sur la résistance et la résilience de la respiration basale des communautés microbiennes soumises à un stress hydrique…….177

Liste des acronymes

ACP: Analyse en Composantes Principales
AFC: Analyse Factorielle des Correspondances
ANOVA: Analyse de Variance
ATR: Attenuated Total Reflectance
AWCD: Average Well Colour Development
CEMAGREF : Centre d'Étude du Machinisme Agricole et du Génie Rural des Eaux et Forêts
CIA: Co-Inertia Analysis
CLPPs : Catabolic Level Physiological Profiles
CNRS : Centre National pour la Recherche Scientifique
COT: Carbone Organique Total
DO:Densité Optique
EFFIS: European Forest Fire Information System
ESC: Erreur Standard de Calibration (SEC : Standard Error of Calibration)
ESM: Erreur Standard de la Mesure (SEM : Standard Error of Measure)
ESP: Erreur Standard de Prédiction (SEP : Standard Error of Prediction)
FDA : Fluorescein Diacétate
IMEP : Institut Méditerranéen d'Ecologie et de Paléoécologie
GIEC : Groupe d'Experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat (IPCC : Intergouvernemental Panel on Climate Change)
IPROCOR : Instituto Del Corcho, la Madera y el Carbón Vegetal
IRISE : Impact de la Répétition des Incendies Sur l'Environnement
IRTF: Infrarouges à Transformée de Fourier
LSD: Least Significance Deviation
MO : Matière Organique
MS: Matière Sèche
MSC: Multiplicative Scatter Correction
NT: Azote total
PERMANOVA: Permutational Multivariate Analysis of Variance
PLFA : Phospholipid Fatty Acid
PLS : Partial Least Square
PRESS : Predicted Residual Error Sum of Squares
RDA: Redundancy Analysis
RMCP: Régression des Moindres Carrés Partiels (PLSR : Partial Least Square Regression)
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
RPD: Residual Predictive Deviation
SEK: Soil Ecological Knowledge
SER: Society for the Ecological Restoration
SMIR : Spectroscopie du Moyen Infra-rouge
SNV: Standard Normal Variate
SPIR : Spectroscopie du Proche Infra-rouge
TCD: Thermal Conductivity Detector

Préambule

Chaque année, pendant la saison sèche, des milliers de départ de feux ravagent des centaines d'hectares de garrigues et de forêts méditerranéennes. La perception de ces incendies par les sociétés méditerranéennes, soutenue par des conséquences économiques et humaines très souvent dramatiques, est particulièrement négative. Pourtant, l'homme brûle la forêt méditerranéenne depuis des millénaires à la recherche de meilleurs pâturages et de terres de cultures. L'incendie n'est donc pas un phénomène récent et il a largement contribué à façonner et à diversifier ces paysages et ces écosystèmes. Le caractère dévastateur ou la nécessité de cette perturbation millénaire alimentent un débat scientifique qui n'arrive pas à trancher sur les réels enjeux écologiques des incendies. Les feux de forêt dans la région méditerranéenne ont dramatiquement augmenté pendant les dernières décennies, en raison des rapides changements d'utilisation des terres, et ont récemment ravivé ce débat. Ces préoccupations économiques, sociales et écologiques justifient probablement le regain d'intérêt porté par les pouvoirs publics et le financement de projets de recherches d'envergure dans le cadre de programmes européens. Un autre débat anime les pays industrialisés ; celui de la gestion durable de leur déchets et, en particulier de leurs déchets organiques. Souvent compostées pour en réduire les quantités et les valoriser, les boues produites par les stations d'épuration des eaux usées ainsi transformées constituent une bio-ressource pratiquement inépuisable et potentiellement utilisable pour restaurer la qualité des sols dégradés. Ici encore, l'acceptation par la société de ce type de valorisation repose légitimement sur des garanties d'innocuité et d'efficacité de ces produits. Cette thèse participe à ces deux débats sans *a priori* dogmatique mais avec une argumentation scientifique. Dans ce contexte, la région Provence-Alpes-Côte d'Azur et l'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME) ont financé la bourse de thèse. Elle a également été soutenue par deux projets de recherche: le projet intitulé ''Impacts de la répétition des incendies sur l'environnement' du programme européen Forestfocus et coordonné par Michel Vennetier (CEMAGREF), et le projet 'RESILIENCE' financé par le programme Ingénierie écologique du CNRS/CEMAGREF et coordonné par Raphaël Gros (Université P. Cézanne, IMEP).

Introduction Générale

Introduction générale

La région méditerranéenne est l'un des 34 points chauds (hot-spots) de biodiversité identifiés au plan mondial. Cette richesse biologique élevée, aujourd'hui menacée, s'explique par la diversité des contextes géologiques et édaphiques, par une forte hétérogénéité des conditions climatologiques à méso- et micro-échelle, et par l'ancienneté et l'importance des pratiques agro-pastorales. Les incendies sont des évènements ponctuels et brutaux qui affectent l'intégrité physique du milieu, la disponibilité des ressources et modifient la structure des populations, des communautés et de l'écosystème (Pickett et White, 1985). A ce titre, ils constituent la première perturbation des écosystèmes terrestres et participent à la diversification des habitats et à la dynamique des écosystèmes forestiers en interrompant ou en modifiant l'évolution des communautés végétales. Ils entretiennent une forte hétérogénéité spatiale et contribuent au maintien de la diversité végétale à l'échelle du paysage (Trabaud, 1980). De nombreuses espèces végétales ont par ailleurs développé certaines adaptations morphologiques et physiologiques (Lloret, 1998; Trabaud et Lepart, 1980) leur garantissant une extraordinaire capacité de résistance et/ou de résilience à cette perturbation (Keeley, 1986; Trabaud, 1994).

En Europe, les sols de la région méditerranéenne, tels qu'ils se présentent aujourd'hui, sont issus d'interactions millénaires entre les processus naturels de la pédogenèse et les activités humaines qui se sont développées dans cette région. De nombreux sols ont été défrichés et mis en culture, plantés, pâturés, ou même construits. Au cours des siècles, depuis l'époque néolithique, divers modes d'occupation et divers usages des sols ont souvent alterné, en un même lieu, avec des périodes d'abandon et d'évolution purement naturelle. Les constructions de terrasses, de murets (restanques), de banquettes (bancaous), ainsi que l'élaboration de réseaux d'irrigation et de drainage, ont profondément remanié certains sols. Parfois bénéfique à la qualité des sols et à leurs usages, ces actions humaines ont trop souvent entrainé leur dégradation (pertes de matière organique, déstructuration, érosion hydrique ou éolienne, pollutions…) et dans les cas extrêmes, ont conduit à la quasi-disparition des couches arables.

Les sols méditerranéens sont en général fragiles et vulnérables, et ce, pour plusieurs raisons : les précipitations irrégulières et souvent violentes favorisent l'érosion ; l'importance des pentes aggrave le phénomène ; les températures élevées accélèrent la décomposition de la matière organique et les sécheresses ralentissent la production de nutriments ; la productivité

végétale est souvent réduite à cause de la dureté du climat et de la récurrence des incendies. La vulnérabilité des écosystèmes est définie comme étant leur sensibilité à être modifiés par une perturbation et/ou un stress environnemental ainsi que la difficulté à revenir après cette perturbation ou ce stress. Un stress par opposition à une perturbation est un facteur externe ou interne au système dont l'intensité va engendrer une réponse des populations en fonctions de leur capacité d'adaptation (Barrett et al., 1976). Dans cette étude, la vulnérabilité des sols méditerranéens considère à la fois la perte de capacité à revenir à un niveau de fonctionnement optimal après la perturbation (i.e. incendie) et la perte de résistance et de résilience à un stress additionnel (i.e. stress hydrique). L'augmentation de la récurrence de perturbation et de stress devrait amplifier cette vulnérabilité.

Les mutations socio-économiques opérées à partir de la fin des années 1960-1970, et en particulier l'exode rural, ont bouleversé les équilibres préexistants conduisant à une déprise des terres agricoles (Amouric, 1985 ; Pausas, 2004). La fermeture des milieux et le recul du nombre d'incendies grâce aux mesures de prévention et de protection, accentuée par une aridification du climat (Gibelin et Déqué, 2003 ; GIEC, 2007), ont augmenté le nombre et la surface de grands feux, et au plan local, la fréquence des incendies (Figure I.1). Ainsi en 1979, 1989 puis 1990, les incendies ont détruits respectivement 30 181 ha, 30 811 ha et 36 218 ha d'écosystèmes pré-forestiers et forestiers pour la seule région Provence Alpes Côte-d'Azur (source Prométhée). En 2003, 69 000 ha de garrigues et de forêts ont été incendiés pour l'ensemble des 15 départements littoraux méditerranéens français et environ 800 000 ha répartis entre le Portugal, l'Espagne et l'Italie (source IPROCOR).

La fréquence des incendies fait peser une menace permanente sur la sécurité publique et sur la qualité du cadre de vie. L'impact réel des feux sur l'écosystème forestier méditerranéen est une question d'actualité, qui a un grand retentissement médiatique et des implications financières fortes. L'augmentation des températures prédite dans les années à venir (GIEC, 2007) risque de favoriser l'extension des grands feux de forêts qui à terme, implique l'augmentation forte des surfaces incendiées. Ceci conduirait à la fois à l'extension des grands feux de forêts, combinée avec des écosystèmes très fréquemment incendiés (TF). Cette forte fréquence d'incendies mènerait alors à l'homogénéisation des peuplements forestiers avec un impact potentiel maximal (Figure I.1).

L'augmentation de la fréquence des incendies favorise la persistance de séries végétales régressives, où les essences de chênes sclérophylles ou à feuillage caduc sont

remplacées par des espèces favorisées par les feux (Barbero, 1990). Après chaque feu, les espèces principales de la communauté végétale préexistante se réinstallent par un processus d'autosuccession (Ferran et Vallejo, 1998), et en conséquence, ces communautés végétales présentent une relative stabilité écologique et floristique (Lepart et Escarré, 1983). Les plantes pyrophytes ou pyrophiles constituent un 'pool' d'espèces très compétitives contribuant par leur pouvoir de colonisation et d'occupation à uniformiser et banaliser les formations végétales et à réduire considérablement la diversité floristique (Barbero *et al.*, 1988).

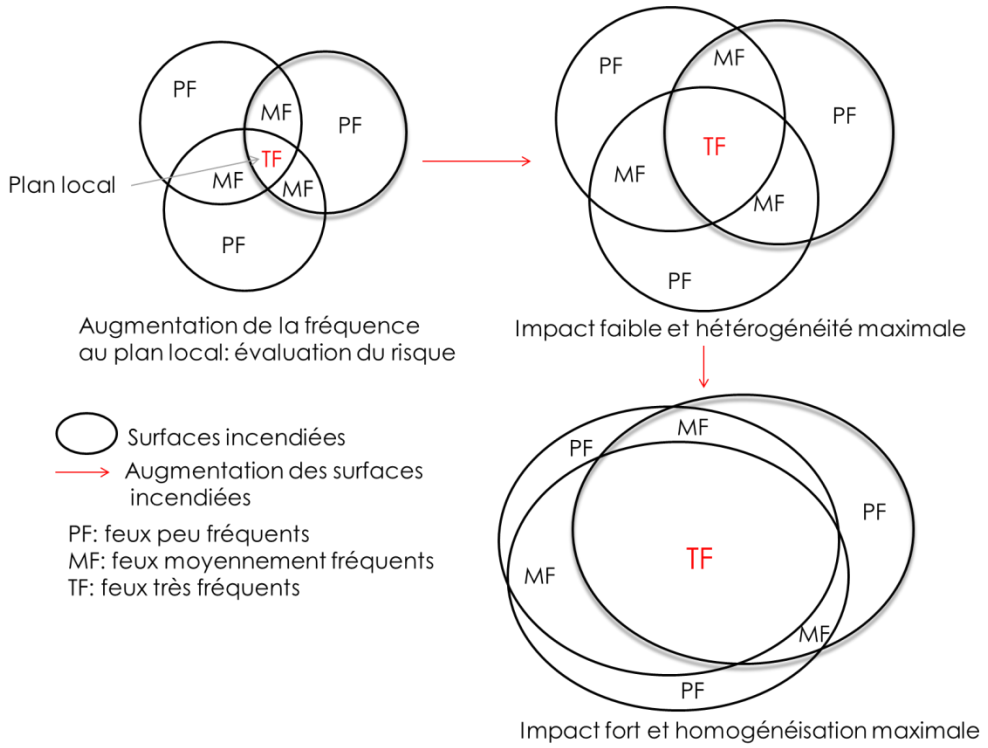


Figure I.1 : Probabilité d'augmentation des surfaces incendiées et de la fréquence d'incendies avec le réchauffement climatique.

Dans un contexte de sols naturellement fragiles, parfois fortement dégradés, les incendies répétés pourraient contribuer à éliminer les bénéfices d'une pédogenèse se déroulant sur des pas de temps très longs. La capacité de reconstitution de la forêt après les grands feux doit ainsi être éclairée par une évaluation objective, sous un régime d'incendies répétés, de la dynamique de retour à court et long termes des propriétés biologiques et chimiques des sols et de la stabilité des fonctions microbiennes.

Hypothèse et objectifs

L'érosion et le brûlage appauvrissent progressivement le sol en matière organique et en nutriments (Knicker, 2007; Reich *et al.*, 2001) jusqu'à un certain seuil au-delà duquel les fonctions microbiennes, en particulier les activités de minéralisation, peuvent être durablement altérées par une trop grande récurrence d'incendies (Figure I.2). Les pertes fréquentes de nutriments par volatilisation ou érosion, et la diminution du temps entre les feux pour restaurer les stocks par la minéralisation microbienne, pourraient alors diminuer la capacité de reconstitution spontanée des peuplements forestiers et altérer gravement la dynamique de retour de l'écosystème. La vulnérabilité de ces écosystèmes se traduirait également par une perte de stabilité (i.e. résistance et résilience) face à des stress environnementaux additionnels (i.e. stress hydriques). La résistance et la résilience à des stress sont deux composantes mesurables de la stabilité des fonctions éco-systémiques (Pimm, 1984). Dans cette étude, la résistance est la capacité inhérente d'une fonction à supporter un stress hydrique (Figure I.2). La résilience est définie comme étant soit la capacité de cette fonction à retrouver son niveau initial (avant stress), soit la vitesse de ce retour (Holling, 1973 ; Grimm et Wissel, 1997) (Figure I.2). L'accroissement de la fréquence d'occurrence des stress environnementaux, voire leur chronicité est susceptible d'affecter rapidement les traits de vie des micro-organismes du sol (croissance, reproduction, temps de génération, respiration…) (Barrett *et al.*, 1976). Ils sont, en ce sens, différents des perturbations brutales générées par des événements paroxystiques et aléatoires (i.e. incendies) mettant en jeu l'intégrité physique de l'écosystème (appauvrissement en ressource, déstructuration des sols…) et la survie des organismes (Pickett et White, 1985). La combinaison de perturbations et de stress extrêmes engendrent la mort des micro-organismes ou induisent leur entrée en dormance (Suzina *et al.*, 2004). La mortalité et la sporulation des micro-organismes, en réduisant les effectifs de cellules actives, affectent directement les activités microbiennes impliquées dans les divers cycles biogéochimiques et, par voie de conséquences, perturbent le fonctionnement de l'écosystème.

La quantité de matière organique, sa qualité chimique et son accessibilité, sont des facteurs clés de la dynamique microbienne des sols dégradés (Gros *et al.*, 2004) et de leur reconstitution (Young *et al.*, 2005). L'apport de matière organique exogène après un incendie

pourrait s'avérer être un moyen efficace de restaurer la qualité des sols favorisant ainsi la dynamique de retour et la stabilité du fonctionnement microbien (Figure I.2). De plus, la qualité de ces apports pourrait être plus ou moins adaptée à l'état de perturbation de l'écosystème notamment en termes de ressource pour les micro-organismes. Ainsi, les amendements sur sol incendié constitueraient une voie de valorisation des produits résiduels organiques, s'intégrant dans la mise en place d'une gestion raisonnée de ces produits. La pérennisation de cette filière de valorisation des déchets organiques nécessite cependant la définition des objectifs de restauration, donc le choix d'un écosystème de référence, l'évaluation de l'efficacité des apports, l'identification des conditions optimales de mise en œuvre (dose, maturité…) et l'assurance de l'innocuité environnementale des produits.

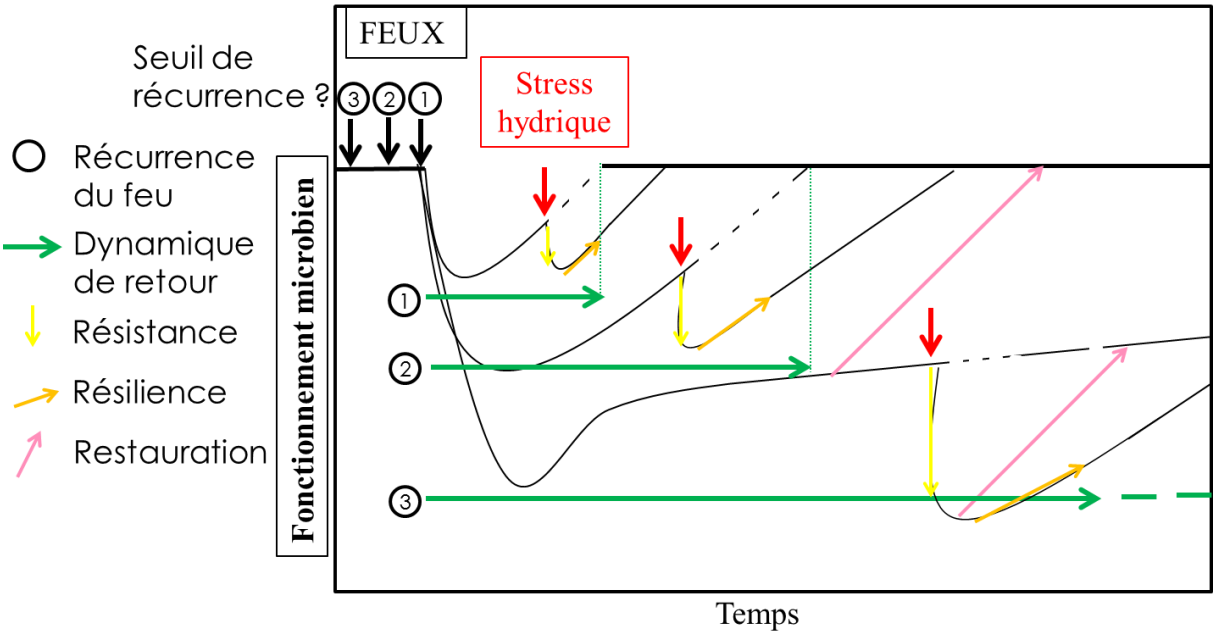


Figure I.2 : Hypothèses de travail sur la vulnérabilité du fonctionnement microbien (i.e. dynamique de retour et stabilité) face à l'augmentation de la récurrence d'incendies combinée à des stress environnementaux additionnels (i.e. stress hydriques).

Les objectifs de la thèse sont donc, dans un contexte de 'hot spot', d'abandon des usages et d'évolution bioclimatique accélérée, d'évaluer précisément 1) la vulnérabilité des sols méditerranéens soumis à des feux répétés et 2) l'efficacité d'apport de composts pour favoriser la restauration de la qualité des sols incendiés.

L'évaluation de la vulnérabilité des sols méditerranéens soumis à une augmentation de la récurrence des feux nécessite :

- D'étudier les dynamiques de retour à court et long termes des propriétés des sols en comparant deux chronoséquences post-incendies soumises soit à des feux peu fréquents soit à des feux fréquents.
- D'identifier les facteurs abiotiques qui contrôlent la dynamique de retour microbienne
- D'évaluer, sous ces différents régimes d'incendies, la stabilité (i.e résistance et résilience) des fonctions microbiennes à des stress environnementaux additionnels.
- De déterminer le régime d'incendies 'seuil' au-delà duquel la dynamique de retour et la stabilité microbienne peuvent être compromises.

L'évaluation de l'efficacité de l'apport de composts pour favoriser la restauration de la qualité des sols incendiés nécessite :

- De déterminer l'efficacité de l'apport de composts pour restaurer les propriétés des sols incendiés de manière récurrentes.
- De tester si la qualité (i.e. dans cette étude la maturité) des composts doit être adaptée à l'état de perturbation des sols et donc au régime d'incendies.

Contexte expérimental, démarche et plan de la thèse

La thèse aborde ces questions en combinant des approches descriptives et expérimentales en conditions réelles et de laboratoire. Elle s'appuie sur une trentaine de parcelles de terrain identifiées à la suite des feux de l'été 2003 et caractérisées par des analyses réalisées dans le cadre du projet IRISE (Impact de la Répétition des Incendies Sur l'Environnement - programme Forest-focus). Ces parcelles sont situées dans le Massif des Maures (région PACA, Var) et permettent de comparer des histoires d'incendies variables par le nombre de feux, le temps entre les feux et le temps depuis le dernier feu, sur des zones qui ont en commun un faciès géologique siliceux. A partir de ce plan d'expérience complet de terrain, les hypothèses ont été testées sur des sélections de parcelles et éventuellement par une manipulation des sols *in-situ* ou en laboratoire. Un ensemble d'outils et de techniques ont

alors été mis en œuvre pour analyser les caractéristiques chimiques et microbiologiques des échantillons de sol.

Le document de thèse est structuré en 6 chapitres :

Le premier chapitre est une synthèse bibliographique portant sur l'écologie des feux (§ 1.1.), la vulnérabilité des écosystèmes (§ 1.2.) et la restauration écologique (§ 1.3.). Il dresse un bilan des connaissances acquises et des questionnements actuels relatifs aux impacts des incendies sur les écosystèmes et à l'efficacité d'un apport de compost pour restaurer la qualité des sols.

Le contexte expérimental de terrain (§ 2.1.) et les méthodes de mesure des propriétés chimiques (§ 2.2.) et microbiennes (§ 2.3.) des sols sont présentés dans le second chapitre.

Le chapitre 3 est le premier chapitre consacré à l'exposé des résultats. Il décrit, sous la forme d'un article soumis pour publication, les dynamiques de retour à court et long termes des activités microbiennes (activités de minéralisation du carbone et de l'azote, activités enzymatiques extracellulaires, profils des fonctions cataboliques) sous un régime d'incendies fréquents ou peu fréquents. Les facteurs impliqués dans le contrôle de cette dynamique de retour, parmi les teneurs en carbone organique total, en nitrate, en ammonium, en phosphore assimilable et la qualité de la matière organique (étudiée par spectroscopie du moyen infra-rouge - SMIR), sont identifiés par une approche corrélative.

Le chapitre 4 se présente également sous la forme d'un article soumis pour publication. Il identifie les histoires d'incendies au-delà desquelles une augmentation du nombre de feu ou une diminution de l'intervalle de temps entre 2 feux deviennent problématiques pour la dynamique de résilience à long terme des fonctions chimiques de la matière organique des sols (étudiée par Résonance Magnétique Nucléaire solide du ^{13}C) et les fonctions cataboliques microbiennes. Ce chapitre identifie et décrit les écosystèmes de références et les écosystèmes dont la capacité de retour de la qualité des sols pourrait être améliorée par des apports de composts.

L'importance de l'eau dans le fonctionnement des écosystème méditerranéens 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). Les effets des incendies récurrents sur les capacités de résistance et de résilience des fonctions microbiennes (respiration basale et induite, activités enzymatiques extracellulaires, diversité des fonctions cataboliques) aux stress hydriques sont présentés dans le cinquième chapitre. Ce chapitre décrit également le rôle de la disponibilité des ressources dans le contrôle de la stabilité des fonctions microbiennes.

Le chapitre 6 présente les résultats d'une expérience *in-situ* de restauration écologique de la qualité chimique et microbiologique des sols incendiés par un apport de composts. La maturité du compost qui favorise une restauration optimale de la qualité des sols et de la stabilité fonctionnelle aux stress hydriques est déterminée. Ce travail s'inscrit dans le cadre du projet RESILIENCE financé par le CNRS et le CEMAGREF (programme interdisciplinaire scientifique « Ingénierie écologique »).

Les résultats importants acquis au cours de cette thèse ont été synthétisés et discutés dans un septième et dernier chapitre, résumé des acquis et des limites de ce travail, qui nous ont amené à suggérer des perspectives de recherche et de gestion des écosystèmes méditerranéens.

Chapitre 1

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

La synthèse bibliographique s'articule autour des 3 principales thématiques abordées dans cette thèse. L'écologie des feux, en particulier les effets des incendies sur les propriétés physico-chimiques et biologiques des sols, constitue la thématique principale de cette thèse et est présentée dans une première section. La deuxième section définie la vulnérabilité des sols méditérranéens aux perturbations et stress environnementaux ainsi que la manière de l'appréhender (i.e. dynamique de retour et stabilité des fonctions). Finalement, les principes fondamentaux et les connaissances empiriques relatifs à la restauration de la qualité des sols dégradés sont présentés dans une troisième section.

1.1. Incendies en région méditerranéenne

1.1.1. Le paradoxe du feu

Le feu est la cause principale de la destruction des forêts dans les pays du bassin méditerranéen. Malgré la mise en place de réseaux de surveillance, le développement d'actions de prévention et le financement des moyens de lutte, environ 50000 incendies ravagent chaque année, de 700000 ha à 1 million d'ha de forêt méditerranéenne, causant des dommages écologiques, économiques et humains sévères. En Europe, les cinq pays (Portugal, Espagne, France, Italie, et Grèce) membres de l'EFFIS (European Forest Fire Information System) ont recensé 52795 incendies en 2009 affectant une surface totale de 323 896 hectares pour ces territoires (JRC scientific report, 2010). En 30 ans, 14 360 304 ha de forêts ont été incendiés dans ces 5 pays, soit l'équivalent de la quasi-totalité de la forêt française métropolitaine (i.e. 15 500 000 ha). En France, 97800 départs de feu ont détruit plus de 860000 ha de forêts et de garrigues au cours des 35 dernières années (source Prométhée).

Ces chiffres contemporains illustrent parfaitement l'importance du feu dans la dynamique des écosystèmes méditerranéens. Les incendies ne sont cependant pas des phénomènes récents. Pons et Thinon (1987) précisent que les extensions du chêne kermès et du pin d'Alep ont été favorisées par 6000 ans de gestion agro-sylvo-pastorale, le feu jouant un grand rôle dans cette gestion (écobuage, feux pastoraux, essartage…). Challot (2004) rapporte, par une synthèse des travaux d'Henry Amouric, une grande quantité de témoignages historiques révélant la profusion des incendies en Provence, la conscience collective des

dégâts occasionnés par ces phénomènes récurrents mais également l'extraordinaire capacité de régénération de la végétation. De toute évidence, la forêt méditerranéenne grandit avec le feu, sera éventuellement consumée par les flammes, mais renaîtra de ses cendres.

L'exode rural et la déprise agricole opérés à partir de la fin des années 1960, accompagnés d'une politique d'éradication systématique des feux, ont favorisé la recrudescence des grands feux (Amouric, 1985 ; Pausas, 2004), et au plan local, ont augmenté la fréquence des incendies. Les incendies répétés favorisent la persistance de séries végétales régressives, où les essences de chênes sclérophylles ou à feuillage caduc sont remplacées par des espèces favorisées par les feux (Barbero 1990). L'homme a besoin du feu pour réguler l'action de la nature, mais le feu non maîtrisé conduit souvent à des catastrophes écologiques menaçant les espèces de disparition. Le paradoxe du feu tient à ce qu'à vouloir lutter à tout prix contre cet élément, on augmente les dégâts potentiels des feux suivants du fait de l'accumulation de biomasse.

1.1.2. Origines des feux et facteurs de propagation

Actuellement, 95% des incendies en Europe sont directement ou indirectement causés par l'homme. Parmi les feux d'origine connue, en moyenne 51% sont criminels, 44% sont accidentels et 5% ont une origine naturelle. Ces chiffres varient cependant fortement entre les pays de l'Union Européenne (Figure 1.1). Les feux dits naturels sont principalement déclenchés par la foudre. L'écobuage, les travaux agricoles, les dépôts d'ordures, les moteurs d'engins forestiers, l'imprudence des touristes, l'insouciance des fumeurs sont autant de causes accidentelles d'éclosion des incendies.

Les facteurs favorisant le développement et la propagation des feux sont les conditions climatiques (sécheresse, vent), le relief, l'inflammabilité et la combustibilité des essences et la structure du combustible liée à l'état d'entretien de la forêt. Le vent agit en favorisant le renouvellement de l'oxygène nécessaire à la combustion, accélère la dessiccation des sols et des végétaux et engendre des sautes de feu (projections de particules enflammées ou incandescentes) qui se révèlent être un phénomène important dans la propagation des incendies. Le relief joue également un rôle primordial dans le comportement du feu ; son absence également. L'absence d'obstacles naturels favorise l'accélération de la vitesse du vent. En revanche, le relief tourmenté des régions méditerranéennes favorise la propagation par des sautes et la vitesse dans les montées. La végétation est le troisième facteur intervenant

dans la formation et le développement des feux, car elle alimente les foyers en matières combustibles. La litière, les strates herbacées, ligneuses basses et ligneuses hautes présentent des aptitudes variables à la combustion et à la propagation. Par exemple, les maquis, les garrigues et les landes possèdent une inflammabilité moyenne, mais une combustibilité forte et rapide. Cette strate influence grandement le transfert du feu vers la cime des arbres. Finalement, la propagation du feu varie également en fonction des essences forestières. Ainsi, les pins sylvestres, les genévriers, les chênes kermès, les arbousiers, la bruyère arborescente, le ciste de Montpellier ou le ciste à feuilles de sauge favorisent le développement du feu en raison notamment des composés organiques volatiles et des résines qu'elles produisent.

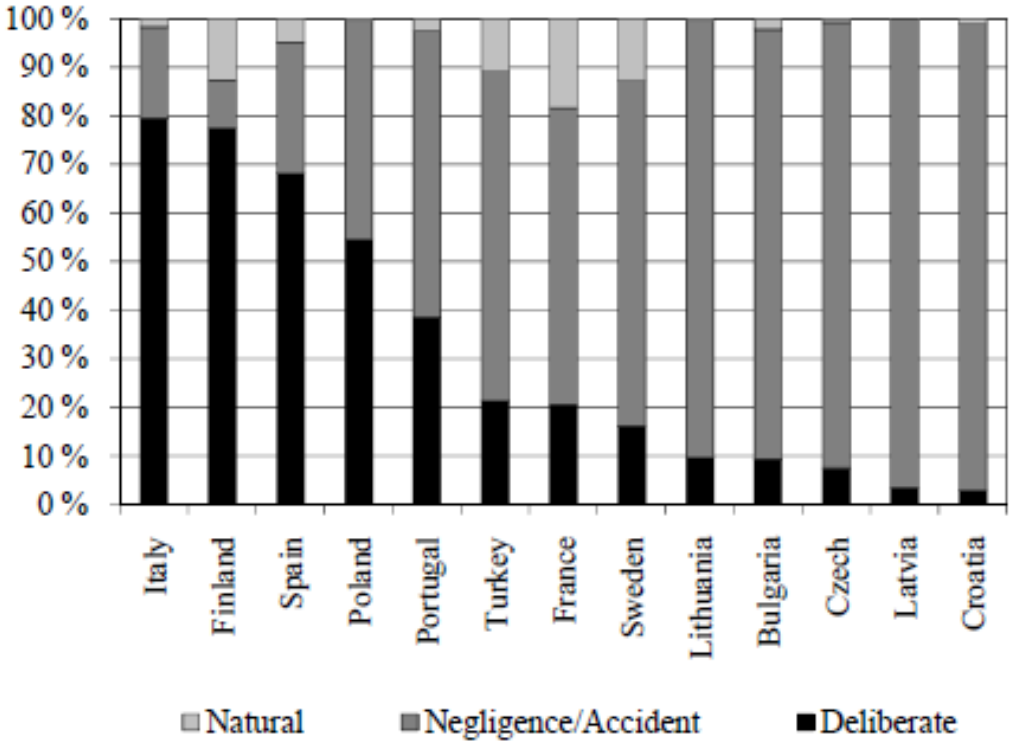


Figure 1.1 : Causes principales des feux en Europe (Catry *et al.*, 2009)

1.1.3. Les successions végétales méditerranéennes post-incendies

La résilience des communautés végétales est étudiée depuis longtemps. Selon Le Houérou (1973), la végétation méditerranéenne est dominée par des plantes pyrophytes qui se sont adaptées aux incendies au fil du temps. Naveh (1975) complète en affirmant que la forte résilience des écosystèmes méditerranéens provient de l'influence du feu depuis la Préhistoire qui a permis aux plantes de développer un certain nombre de mécanismes de survie ou de

régénération (Bukh *et al.*, 2006). Le feu agit en termes de pression de sélection sur les stratégies adaptatives des plantes en modifiant les traits morphologiques et physiologiques :

- leur conférant des capacités de résistance à la chaleur (écorce épaisse lignifiée ou en liège), de survie avec le développement d'organes de stockage dans le sol ;
- en augmentant la dynamique végétale, en stimulant la floraison, le rejet de souche, la tolérance à la sécheresse, les taux de croissance ;
- en permettant la germination de certaines graines libérées dans un environnement favorable (e.g. sérotinies stimulées par la chaleur ou la fumée).

L'exemple d'extrême adaptation du pin endémique des îles Canaries (*Pinus canariensis* C. Sm.) qui possède une triple capacité de protection avec le développement d'une écorce épaisse, la capacité de rejet et des cônes à sérotinies (Höllermann, 1993 ; Climent *et al.*, 2004). Toutefois ces mécanismes de survie ou de régénération spécifiques ne sont pas obligatoires. En effet, un grand nombre d'espèces ou de populations végétales se réimplantent après incendie notamment par l'entrée de graines provenant de zones extérieures à celles incendiées ou encore par la propagation de nouvelles pousses (Moreno et Oechel, 1994) favorisées lorsque les feux sont de faible étendue. Les principales études en région méditerranéenne portent sur les stratégies de régénération des plantes telles que les espèces de Pinacées (Tapias *et al.*, 2004), les Cistacées, Fabacées, Ericacées et d'autres communes comme le chêne kermès, le pistachier lentisque ou encore le romarin (Buhk *et al*., 2006).

Les incendies modifient le paysage car ils éliminent certaines espèces et en favorisent d'autres. Ils conduisent notamment l'avènement d'espèces opportunistes pyrophytes en créant des conditions de milieu qui sont favorables à leur régénération notamment en éliminant certains facteurs limitant (agents allélopathiques et phytotoxiques) et en réduisant la compétition pour la ressource (quantité de lumière, les nutriments et l'eau) et pour l'espace. Ces conditions permettent l'implantation de plantes à graine telles que des thérophytes et les plantes qui rejettent. De plus, la minéralisation de la matière organique par le feu libère une grande quantité de nutriments (Cf. § 2.4.2.) permettant ainsi aux communautés végétales pionnières de s'implanter très rapidement. Ces espèces sont pour la plupart éphémères et sont donc restreintes à une durée de vie dans les trois années qui suivent le feu (Keeley et Fotheringham, 2000). Bukh *et al.* (2006) rapportent qu'il existe une réelle différence de régénération post-incendie en termes de composition et de diversité végétale en fonction de

l'exposition nord ou sud. Ceci est d'autant plus accentué lorsque l'eau est un facteur limitant majeur comme pour les écosystèmes méditerranéens.

Selon Hopfensperger (2007), les espèces pionnières souvent héliophiles produisent des graines qui vont persister dans les sols pendant plusieurs années et ne pourront germer que si le milieu s'ouvre à nouveau du fait de leur intolérance à l'ombre. Cette stratégie agit comme une « police d'assurance » de l'écosystème qui sera capable de « cicatriser » très rapidement en cas d'incendie. A l'opposé, les espèces des successions secondaires produisent des graines dites passagères qui ne persisteront pas plus d'un an dans les sols (Grime *et al.* 1988) ce qui explique leur absence au début de la succession post-incendie. La diversité végétale après un feu sera donc fortement dépendante à la fois de la taille, de la composition de la banque de graines et de la capacité de certaines espèces à rejeter mais également de la sévérité du feu (intensité, durée) sur les organes de survie. Les incendies de grande ampleur pourraient donc rendre le retour des espèces des stades secondaires plus difficile et plus long.

L'augmentation de la fréquence des incendies modifie la structure et la composition des communautés végétales (Reich *et al.* 2001; Curt *et al.*, 2009). Le feu sélectionne ainsi des communautés végétales adaptées aux faibles conditions de ressource avec un potentiel de compétition souvent fort. Ces communautés végétales sont riches en composés allélopathiques, phytotoxiques et limitent la colonisation par une nouvelle végétation, et pourraient également contrôler l'activité, la taille et la structure des communautés microbiennes et de fait les cycles biogéochimiques (Hart *et al.*, 2005). 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 les sécheresses de plus en plus présentes, les espèces végétales méditerranéennes développent des mécanismes d'adaptation biochimique, 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 pluvio-

lessivats, ou encore les exsudats racinaires (Castells *et al.*, 2004). L'habilité compétitive du ciste de Montpellier que l'on retrouve systématiquement sur les sols acides après feu pourrait être attribuée à sa richesse en métabolites secondaires mais également à sa prédisposition à ce type de sols. On note toutefois que certaines espèces fixatrices d'azote atmosphérique peuvent avoir un rôle écologique important dans la reconstitution du 'pool' d'azote organique et donc de la fertilité des sols. Seize ans après le passage du feu, la présence d'espèces fixatrices d'azote telle que *Ceanothus velutinus* a permis la restauration du 'pool' d'azote même au-delà de la perte induite par le feu. Dans le massif des Maures, le calycotome épineux (*Calycotome spinosa* L.) qui est également une espèce fixatrice d'azote est présente dans les maquis (Curt *et al.* 2009) et pourrait jouer un rôle majeur dans la régénération du 'pool' d'azote des sols incendiés.

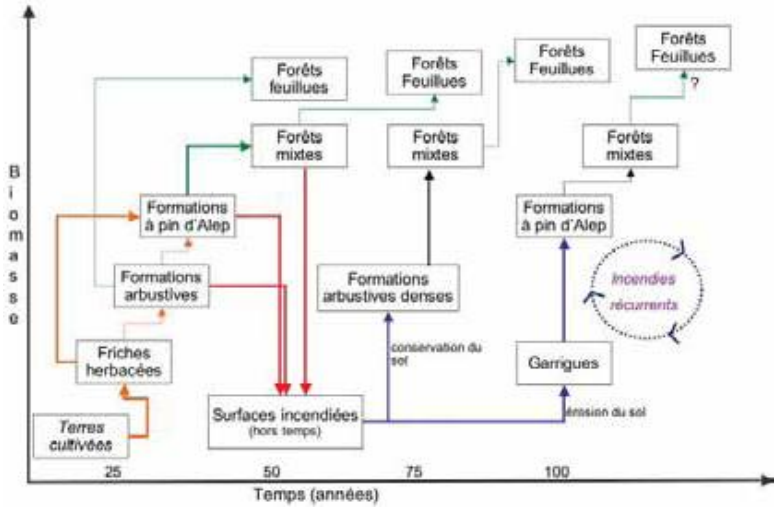


Figure 1.2 : Synthèse schématique de la dynamique de la végétation en Provence calcaire (Tatoni, 1994)

En Provence calcaire, les principales voies dynamiques ainsi que les principaux types de formations végétales concernées sont illustrés dans la Figure 1.2. Tatoni (1994) décrit une recolonisation post-culturale qui s'effectue progressivement, en absence de perturbation, des friches herbacées aux formations forestières caducifoliées (chênaie pubescente). Les formations intermédiaires avec ou sans Pin d'Alep ou Pin sylvestre dépendent alors des conditions édaphiques locales. Cette dynamique est sensiblement modifiée après le passage du feu. Les ligneux bas (ajonc) forment assez rapidement des formations denses pré-forestières lorsque le sol reste en place. Les garrigues à chênes kermès sont favorisées à l'occasion d'une érosion importante des sols et donc une perte des potentialités édaphiques.

Ces formations qui résultent d'une combinaison de perturbations retardent considérablement l'évolution post-culturale vers la chênaie caducifoliée.

Si les capacités de résilience des communautés végétales sont bien étudiées, peu d'études portent sur la résilience des propriétés physico-chimiques et du fonctionnement microbien des sols après feu et sur le long terme (Dangi *et al.*, 2010) et encore moins en fonction de la récurrence des incendies.

1.1.4. Effets des incendies sur les propriétés des sols

Certini (2005) synthétise les données des effets du feu sur les propriétés des sols forestiers. Le facteur principal est la sévérité du feu qui dépend des facteurs environnementaux impliqués dans les processus de combustion comme la quantité, la nature et l'humidité des combustibles morts et vivants, la vitesse du vent et la topographie du site. Cette sévérité dépend de deux composantes : L'intensité et la durée du feu. Une forte intensité combinée à une longue durée du passage du feu entraînerait les plus gros dommages à la fois sur la végétation et sur le sol.

1.1.4.1. Effets du feu sur la matière organique (MO)

Le premier effet visible du feu sur les sols 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. 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 (i.e. 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:

- Le déplacement des groupements oxygénés terminaux (diminue la solubilité)
- La 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 telles que les substances humiques
- La production de composés pratiquement inaltérables appelés ‘black carbon’

Les effets du feu sur la MO dépendent fortement du type et de l’intensité du feu, de la teneur en eau du sol, du type de sol et de la nature de la matière organique brûlée. Les effets d’un incendie sur les caractéristiques organiques des sols et leur intensité sont par conséquent très variables et peu généralisables. Malgré cette difficulté, une synthèse schématique (Figure 1.3) construite par Almendros *et al.* (1990) résume les effets systématiques d’un brûlage intense de l’humus et montre le modèle générique des dynamiques de transformation de la matière organique en composés pyromorphiques.

Selon les travaux de Fernández *et al.* (1997) sur les feux de forêt, une relativement faible température (220°C) entraine la perte de 37% de la MO dans l’horizon superficiel (0-10cm) atteignant toutes les formes de carbone mais à des taux différents : 70-80% de la cellulose et des hémicelluloses, 50% de la lignine et des composés hydrosolubles et 10-25% des lipides sont détruits. Généralement on observe une diminution du ratio *O*-alkyl C / alkyl-C après le feu dû à la dénaturation « préférentielle » des carbohydrates constituant les cires et les cutines (Guinto *et al.*, 1999). Cette perte des groupements *O*-alkyl C se fait au détriment des groupements aromatiques (González-Vila *et al.*, 2002) avec l’augmentation de la présence des hydrocarbures tels que les benzonitriles et les naphtalènes (Alcaniz *et al.*, 1994). On observe également un enrichissement des courtes chaines carbonées (<20 C) provenant des lipides (Almendros *et al.*, 1988) et une augmentation d’un facteur 4 des sucres solubles à 160°C et d’un facteur 12 à 380°C probablement dû à la lyse cellulaire des tissus des plantes et des micro-organismes. Sous l’effet du feu, la fraction humique diminue mais dans de moindres mesures que la fraction non humifiée. Les acides humiques et les acides fulviques sont transformés en composés insolubles (Almendros *et al.*, 1990) avec des modifications structurales telles que la coupure des chaines aliphatiques oxygénées périphériques. De plus, ces composés humifiés subissent 3 processus biochimiques (Almendros *et al.*, 1992):

- la décarboxylation
- la transformation des fractions aliphatiques
- l’aromatisation

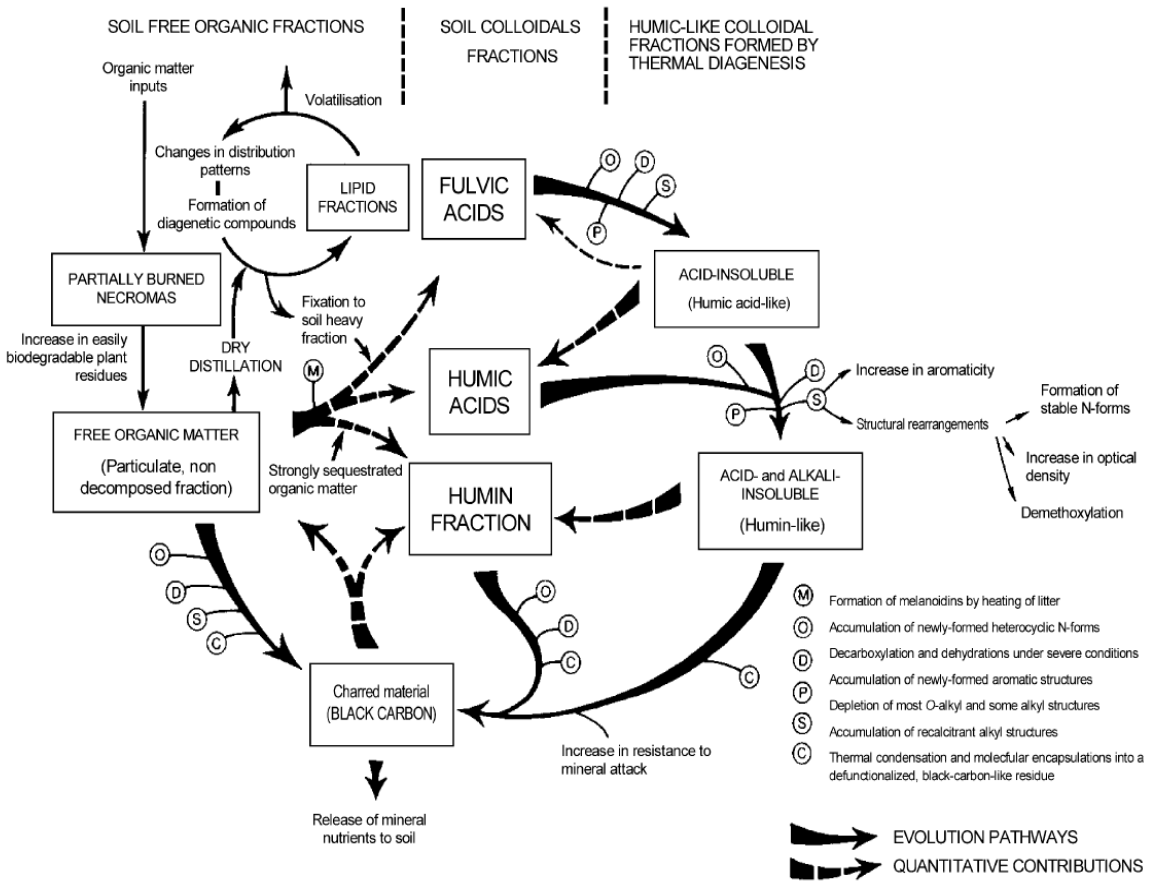


Figure 1.3 : Processus hypothétiques de transformations de la matière organique d'un sol méditerranéen sous chênaie après un incendie sévère (Almendros *et al.*, 1990)

Ponomarenko et Anderson (2001) suggèrent que le feu est un facteur d'humification entrainant des réactions de polymérisation et de polycondensation. 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 (Schmidt *et al.*, 1999). Zackrisson *et al.*, (1996) estiment que les quantités de charbons entre 984 à 2074 kg. ha^{-1} peuvent avoir un rôle écologique non négligeable, notamment en atténuant les facteurs qui inhibent la nitrification tels que les composés phénoliques (DeLuca *et al.* 2002, 2006) et améliorant de fait la disponibilité de l'azote. En effet, ces charbons possèdent des propriétés d'adsorption efficaces et peuvent ainsi réduire la phytotoxicité des phénols. Cependant ce carbone organique et très faiblement bio-disponible et ses propriétés diminuent au cours du temps et finissent par disparaître au bout d'un siècle.

1.1.4.2. Effets du feu sur la disponibilité des nutriments

La chaleur produite par le feu entraîne la volatilisation de l'azote organique (Fisher et Binkley, 2000). Cependant, une fraction de cet azote organique peut persister telle quelle ou être transformée dans les sols brûlés lorsque l'intensité du feu est faible ou modérée. La fertilité du sol, en particulier la teneur en azote minéral, subit des modifications brutales (e.g. production rapide puis lessivage rapide), accentuées dans les zones de pentes par l'érosion des cendres et des horizons superficiels (Pietikainen, 1999). Les ions ammonium (NH_4^+) sont produits directement par la combustion partielle de la matière organique tandis que les ions nitrate (NO_3^-) se forment à partir des ions ammonium par un processus microbien : la nitrification. Elle consiste en l'oxydation des ions ammonium en ions nitrite NO_2^- (i.e. nitritation) puis en l'oxydation de ces derniers en nitrate NO_3^- (i.e. nitratation). Elle nécessite quelques semaines à quelques mois pour se mettre en place après le passage du feu (Covington et Sackett, 1992). Andersson *et al.* (2004) montrent que la destruction de la végétation et la combustion des composés allélopathiques (terpènes, phénols) entraînent l'augmentation de l'abondance des organismes nitrifiants et de fait la nitrification (Hart *et al.*, 2005). Cependant, si le retour de la végétation n'est pas rapide, ces nitrates vont être transférés dans les couches profondes par lessivage et subir la dénitrification (i.e. transformation en azote gazeux) en l'absence d'oxygène par les communautés dénitrifiantes. L'évolution dans le temps de cet azote inorganique dépend du type d'écosystème qui a subi le feu (Covington *et al.*, 1991 ; Covington et Sackett 1992; Grogan *et al.*, 2000) et du temps de retour de la végétation (Weston et Attiwill, 1996). Si la végétation post-incendie comporte des espèces fixatrices d'azote, le *pool* d'azote sera rapidement recouvré (Adams et Attiwill, 1984) voire même pourrait dépasser le niveau pré-incendie (Johnson et Curtis, 2001).

Le phosphore du sol n'est pas altéré par le feu de la même manière que l'azote puisqu'il est peu volatile et difficilement lessivé. Cependant, le brûlage de la végétation et des litières modifie fortement sa disponibilité notamment en minéralisant le phosphore organique en orthophosphate PO_4^{3-} (Cade-Menun *et al.*, 2000) qui est la seule forme du phosphore utilisable dans le monde vivant. Ce pic de disponibilité va rapidement disparaître par des mécanismes de séquestration soit en se liant avec des oxydes métalliques dans les sols acides (Al et Fe) soit à des particules minérales calciques ou par précipitation en phosphate de

calcium dans les sols neutres et alcalins (Certini, 2005). Cette disponibilité du phosphore dans le temps est fortement variable et dépend de nombreux facteurs.

La disponibilité d'autres nutriments est également affectée par le feu mais dans une moindre mesure et à plus court terme. Cette disponibilité dépend évidemment du type de nutriment (Ca, Mg, K,…), des espèces végétales qui ont brûlé, des propriétés du sol, des processus de lessivage (Kutiel et Shaviv, 1992) et de leur solubilité. Khanna et Raison (1986) montrent que les concentrations en Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^{+} et SO_4^{2-} dans l'eau du sol augmentent immédiatement après incendie. Khanna *et al.* (1994) classent ces nutriments qui s'accumulent dans les cendres en fonction de leur solubilité:

- Facilement soluble (K, S, B) avec une composante résiduelle non solubilisable (30%) ;
- Relativement insoluble (Ca, Mg, Si, Fe) dépendamment de la dilution ;
- Fortement insoluble (P).

La disponibilité des nutriments et leur perte principalement après incendies dans les couches supérieures sont contrôlées par les phénomènes d'érosion induits par le ruissellement de l'eau (Thomas *et al.*, 1999).

1.1.4.3. Effets du feu sur les propriétés physiques des sols

La première conséquence visible du feu est la modification de la couleur des sols pouvant servir d'indicateur de la sévérité du feu. Suite à une seule période incendiaire, on observe généralement une diminution de la stabilité structurale des sols. Les effets sur les propriétés physico-chimiques des sols sont fortement modulés par l'intensité du feu (Neary *et al.*, 1999) en raison des modifications que subit la matière organique à la fois quantitativement et qualitativement (Certini, 2005). Les feux modérés sur les sols créent une fine couche continue et hydrophobe à sa surface diminuant ainsi sa perméabilité et augmentant ainsi le risque d'érosion (DeBano, 2000 ; Robichaud, 2000). De même, dans le cas de feux d'intensité faible ou modérée, la stabilité structurale des sols peut être améliorée par la formation d'un film hydrophobe à la surface des agrégats (Mataix-Solera et Doer, 2004). A l'inverse, une forte intensité de feu entraîne la désorganisation complète de la structure des sols et de leur stabilité par la perte de la matière organique qui joue un véritable rôle de 'ciment' (Badìa et Martìn, 2003). Ces auteurs montrent qu'à ces effets s'ajoute également une diminution de la capacité d'échange des sols diminuant ainsi leur aptitude à

retenir les nutriments et donc leur fertilité. Les résultats de Boix Fayos (1997) montrent que le feu diminue la capacité au champ des sols brûlés et en conséquence entraine l'augmentation du ruissellement et des phénomènes d'érosion diminuant ainsi les particules fines telles que les argiles. La chaleur du feu dénature les acides organiques entraînant de fait une forte augmentation du pH des sols. En revanche cette augmentation est négligeable dans les sols riches en carbonates au fort pouvoir tampon (Certini, 2005).

1.1.4.4. Effets du feu sur les communautés microbiennes et leurs activités

Les effets du feu sur les micro-organismes sont classés en deux catégories : Les effets directs de la calcination du sol (i.e. effets à court terme) et les effets indirects via les modifications à plus long terme de la végétation et des propriétés physico-chimiques du sol (Figure 1.4) (Hart *et al.*, 2005). Cette végétation qui recolonise le milieu dépend quant à elle des conditions physico-chimiques et des ressources disponibles (cf § 2.2.2) engendrées par le feu.

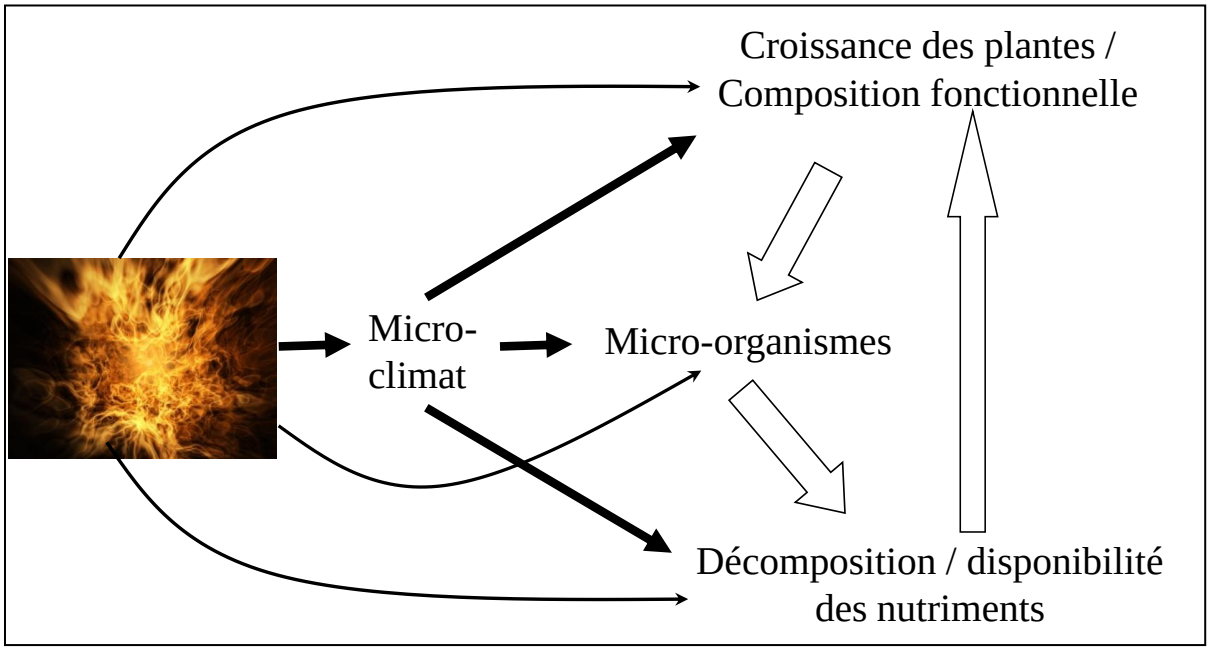


Figure 1.4 : Modèle conceptuel des effets du feu sur les écosystèmes forestiers (Hart *et al.*, 2005).

Effets directs des incendies sur les propriétés microbiennes du sol

Les effets directs concernent toutes les modifications immédiates induites par l'incinération ou une augmentation importante et brutale de la chaleur. Les effets directs d'un incendie sur le sol dépendent de la sévérité du feu (intensité, durée), du type de végétation et des paramètres physico-chimiques du sol tels que l'épaisseur des horizons, la qualité et la quantité de matière organique, l'humidité et l'air contenu dans les pores (DeBano *et al.*, 1998). Les effets du feu sont les plus importants dans les couches superficielles du sol (i.e. horizon organique lorsqu'il existe et les premiers centimètres de l'horizon minéral) où l'abondance et l'activité des micro-organismes sont les plus importantes (Neary *et al.*, 1999).

L'élévation de la température induite par le feu entraîne une diminution de la biomasse microbienne (DeBano *et al.*, 1998; Pietikäinen, 1999) pouvant aller jusqu'à la quasi stérilisation des couches superficielles (Prieto-Fernández *et al.*, 1998). L'humidité des sols est le facteur majeur qui contrôle l'impact du feu sur les propriétés biologiques des sols. En effet, Choromanska et DeLuca (2002) ont montré que, sous l'effet du feu, la vitesse de propagation des températures augmentait avec l'humidité des sols, probablement à cause d'une meilleure conduction de la chaleur par l'eau par rapport à l'air, ce qui engendrait une perte supérieure de biomasse microbienne.

Dans une forêt d'épicéa, Pietikäinen et Fritze (1995) ont montré qu'un feu de faible intensité provoquait une diminution de la respiration basale microbienne, mais que cette diminution n'était pas proportionnelle à la perte de biomasse. Il en résulte un plus fort quotient respiratoire (qCO_2=respiration basale/biomasse) des sols incendiés et donc une perte d'efficacité métabolique des communautés microbiennes (i.e. stratégies r stimulées) qui gaspillent la ressource.

Dans des forêts méditerranéennes de pins, le feu diminue les activités enzymatiques déhydrogénases, uréases, phosphatases alcalines, arylsulfatases et certaines protéases. Cette diminution va de pair avec une baisse de la respiration basale et la perte de biomasse microbienne (Hernández *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.) diminue les phosphatases acides (15-50%), les β-glucosidases (5-50%) mais n'altère pas les activités chitinases et même augmente fortement les phénol-oxydases (20-80%) probablement à cause de l'aromatisation de la matière organique.

Le brûlage altère la composition spécifique des communautés microbiennes du sol : Bååth *et al.* (1995) ont montré par l'analyse des acides gras membranaires des micro-

organismes (PLFA), que le feu favorisait le développement des bactéries au dépend des champignons plus sensibles à la chaleur. Cette 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) démontrent 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. L'augmentation du pool d'ions ammonium (NH_4^+) généralement observé après feu peut également favoriser le développement des bactéries nitrifiantes (Hart *et al.*, 2005).

Effets indirects des incendies sur les propriétés microbiennes du sol

On distingue deux types ***d'effets indirects*** du feu sur les communautés microbiennes : les effets abiotiques et les effets biotiques :

Les effets abiotiques d'un incendie sur les caractéristiques microbiennes concernent les modifications engendrées par des changements d'insolation ou de microclimat, des changements physico-chimiques du sol (e.g. texture, pH, disponibilité des nutriments, imperméabilisation, teneur en MO), ou encore l'impact des charbons.

Les effets biotiques nous intéressent particulièrement dans ce projet. Ils seraient les facteurs clés du contrôle à long terme de la dynamique microbienne. L'effet le plus important est conduit par une modification de la dynamique végétale post-incendie (Figure 1.4).

Les principaux facteurs 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 qualité des ressources (matière organique labile *vs* récalcitrante à la dégradation), iii) la compétition pour les nutriments et iv) le mutualisme entre plantes et micro-organismes.

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 (sévérité et récurrence), 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 micro-organismes (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 (e.g. *Cistus albidus*, *C. monspeliencis*, *C. saviifolius*), des fabacées (*Calycotome spinosa, Ulex parviflorus*) intégrant à moyen terme des ericacées (*Arbutus unedo, Erica Arborea*) et à plus long terme des fagacées (*Quercus ilex, Q. pubescens*). Cette 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, tanins et terpènes en début de succession, qui sont très réfractaires à la dégradation. En effet, le lien étroit qui existe entre les plantes et les communautés microbiennes du sol (Hobbie, 1992 ; 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 et donc par la disponibilité et la qualité des ressources du système (Kaye et Hart, 1997 ; Hart *et al.*, 2005). Cependant et malgré ces apports réfractaires à la dégradation, cette étape permet la reconstitution des stocks de matière organique des sols notamment en ralentissant les processus de minéralisation et d'oxydation par les communautés microbiennes du sol (Sinsabaugh, 2010). De plus, le feu contrôlerait de manière indirecte la survie et la recolonisation par les organismes du sol en diminuant et en transformant la ressource (MO) et en modifiant les propriétés des sols. En produisant des composés toxiques pour les cellules tels que des molécules aromatiques polychlorées ou encore des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), le feu affecte le fonctionnement microbien et ralentit ainsi la dynamique des cycles de la matière.

1.1.4.5. Effets des feux répétés sur les communautés microbiennes et leurs activités

Peu d'études ont mis en évidence l'impact que pouvait avoir la récurrence des incendies sur les communautés microbiennes et les processus qu'elles catalysent. Cette récurrence induit des changements dans la structure des communautés fongiques, diminue la disponibilité du C et du N (Bastias *et al.*, 2006) et diminue la biomasse microbienne (Ojima *et*

al., 1994 ; Akma *et al.*, 1995). Boerner et Brinkman, (2003) ont travaillé sur des activités enzymatiques impliquées dans la biodégradation de large gamme de substrats des sols. Ainsi, les activités enzymatiques impliquées dans la libération du phosphore (e.g. phosphomonoestérase) dans la solution du sol ainsi que dans la biodégradation des composés labiles (β-glucosidase) étaient fortement diminuées par le passage répété du feu. Inversement, les activités phénol-oxydase (laccase et péroxydase) liées à la dégradation des composés récalcitrants telle que la lignine et autres composés aromatiques augmentent considérablement. En revanche, les enzymes catalysant la transformation de la chitine en composés de faible poids moléculaire riche en C et N sont peu affectées. Dans une étude ultérieure, Boerner *et al.*, (2004) montrent que la récurrence du feu n'affecte pas les propriétés des sols ni même la minéralisation et la nitrification nette du N et qu'elle induit même une forte augmentation de ces processus et ceci probablement à cause de la richesse en azote de leurs sols due aux dépôts atmosphériques. Ces résultats supposent que l'impact de cette récurrence du feu va dépendre de la situation géographique des zones incendiées et des conditions du milieu telle que la disponibilité de la ressource.

1.2. Origine, diversité et vulnérabilité des sols méditerranéens

Les sols du bassin méditerranéen sont à la fois diversifiés, naturellement fragiles, exposés à des conditions climatiques sévères et, lorsque leurs propriétés physiques ou chimiques le permettent, soumis à une forte pression anthropique. La diversité des fonctions écologiques (réservoir de matières organiques et minérales, régulateur des échanges et des flux dans l'écosystème, lieu de transformation de la matière organique, etc. (Gobat *et al.*, 2003) et des usages socio-économiques supportés par ces sols renforce leur vulnérabilité face aux perturbations naturelles ou d'origine humaine ainsi qu'aux stress environnementaux. La conservation des sols et la restauration de leur qualité représentent par conséquent un enjeu majeur pour les sociétés méditerranéennes (Harris et van Diggelen, 2006).

1.2.1. Origine et diversité des sols méditerranéens

Depuis des millénaires, les interactions multiples entre les processus naturels de pédogénèse et les activités humaines ont conduit à la formation des sols méditerranéens tels que nous les connaissons aujourd'hui. Dès le Néolithique, où pense-t-on les systèmes agraires

reposaient sur la technique de la culture itinérante après « abatis-brûlis », avec des effets fortement érosifs sur certains sols, l'homme a contraint son environnement parfois bien au-delà de ce que ce dernier pouvait supporter. Rares sont les sols méditerranéens qui ont pu évoluer sans être marqués plus ou moins profondément par l'action directe ou indirecte de l'homme.

Les sols se forment à partir de l'altération de la roche mère (i.e. succession primaire). La nature géochimique va influencer la formation des sols au cours de la succession secondaire avec le type de végétation qui va se développer dessus. Les strates végétales portent d'ailleurs leur nom en fonction du type de roche mère : le maquis s'établissant sur des terrains siliceux et la garrigue sur des sols plus secs et calcaires avec toutefois une composition végétale qui peut leur être spécifique, certaines espèces étant inféodées à un type de roche mère.

La variété des climats rencontrés en région méditerranéenne, de l'hyperaride (P<100 mm) jusqu'au per-humide (P>1200mm), un relief allant du niveau de la mer jusqu'à 3000 mètres d'altitude ont permis la formation de presque tous les types de sols. Selon l'étude bibliographique Plan bleu (2003) traitant des menaces qui pèsent sur les sols dans les Pays méditerranéens, le groupe principal des sols est constitué des sols bruns (cambisols) aux horizons peu différenciés que l'on retrouve aussi bien sur des roches calcaires que siliceuses. Les sols alluviaux (fluvisols) sont les plus favorables à l'agriculture et constituent 22 % des sols méditerranéens. Ils sont formés par les dépôts réalisés par les rivières et les fleuves à la faveur des crues. Les sols rouges (fersialsols) sont très riches en oxydes d'aluminium et de fer qui donnent cette couleur caractéristique et constituent 8,6% des sols méditerranéens. Les sols argileux sombres (vertisols) caractérisés par leurs mouvements verticaux dus au retrait et au gonflement des argiles (montmorillonites), et les sols formés sur cendres volcaniques (andosols) très stables grâce à leur richesse en alumine (complexes humus - alumine).

1.2.2. Vulnérabilité des sols méditerranéens

La protection des sols dans le bassin méditerranéen est devenue une préoccupation importante dès la haute Antiquité, en témoignent les vestiges de différentes catégories d'ouvrages d'aménagement hydro-agricole de cette époque (Skouri, 1994). L'homme a donc occupé et utilisé les sols de différentes manières alternant les phases d'utilisation intense

notamment, jusqu'à leur abandon total permettant des évolutions purement naturelles constituées de formations ligneuses et herbacées assurant la protection des sols contre l'érosion hydrique et éolienne. L'abandon de la culture nomade au détriment de la sédentarisation s'est donc produit avec l'apparition de l'agriculture et l'élevage qui ont connu un essor considérable notamment à l'apogée de la civilisation grecque et romaine. L'eau étant de loin le facteur limitant principal de l'agriculture en région méditerranéenne et d'une façon générale de la productivité, l'homme a dû recourir à l'irrigation imposée par l'aridité du climat avec tous les effets négatifs que cela encourt. De fait, l'érosion et la salinisation des sols ont constitué les principales causes de dégradation des sols méditerranéens dans le passé (Lahmar et Ruellan, 2007). Par ailleurs, le feu a été largement utilisé pour ouvrir les milieux et créer de grandes zones agricoles et de pâturage, mais également dans le but de fertiliser les sols. Ceci a largement contribué à leur érosion en particulier dans les zones de forte pente, conduisant à la perte de matière organique et donc de cohésion et de fertilité des sols.

Si la pression exercée par l'homme sur les sols méditerranéens est une réalité depuis les temps anciens, elle s'est accrue au cours du dernier siècle par l'augmentation constante des besoins en ressources naturelles. Selon Yaalon (1997), les sols méditerranéens feraient même partie des sols les plus anthropisés de la planète. Les régions méditerranéennes cumulent les facteurs naturels propices à la dégradation de leur qualité (Lahmar et Ruellan, 2007) et sont de fait souvent fragiles. En effet, les sols sont souvent peu épais, le couvert de la végétation est souvent clairsemé favorisant, sous des régimes de précipitations faibles mais violents, des mécanismes d'érosion accentué par un relief souvent acéré. À ces dégradations naturelles s'ajoute un accroissement démographique dans des zones rurales pauvres qui entraîne la surexploitation d'une ressource jugée non renouvelable (labour de zones marginales de pente très sensibles à l'érosion, surpâturage, surexploitation du bois de feu). L'intensification agricole moderne mal conduite dans certains secteurs a favorisé la salinisation du sol par des irrigations mal contrôlées. L'urbanisation galopante consomme de l'espace, provoque une artificialisation des écosystèmes et engendre des pollutions nécessitant parfois l'isolement ou le confinement définitif des sols.

La généralisation de la vulnérabilité des sols méditerranéens est toutefois à nuancer : Par exemple les sols formés au nord du bassin méditerranéen, où le climat est plus humide, sont généralement plus riches en matière organique et n'auront pas la même sensibilité aux perturbations et fluctuations climatiques que les sols formés au sud où les températures et les

sécheresses sont extrêmes, les variations climatiques rapides exacerbant leur sensibilité à la désertification. L'état des lieux des sols méditerranéens indique une accélération des dégradations avec parfois un seuil d'irréversibilité déjà atteint voire dépassé (Lahmar et Ruellan, 2007). Les sols méditerranéens sont sensibles à l'érosion en particulier si les sols ont été dénudés par le labour, le surpâturage, les incendies de forêt récents qui comme les pratiques agricoles inadéquates, participent à la perte de matière organique des sols et la perte de stabilité des agrégats.

Dans cette étude, la vulnérabilité des sols méditerranéens face aux feux récurrents sera étudiée sous deux angles : la dynamique de retour des propriétés chimiques et microbiologiques après feu à court et long termes et la stabilité (i.e. résistance et résilience) des fonctions microbiennes soumises à des stress environnementaux (i.e. hydriques).

1.2.2.1. Dynamique de retour des communautés microbiennes et de leur fonctionnement après feu

La végétation des écosystèmes méditerranéens est fortement résiliente à un incendie, cependant qu'en est-il du fonctionnement microbien ?

L'intérêt pour l'étude de la dynamique de retour à long terme des communautés microbiennes est très récent (Dangi *et al.*, 2010). La capacité de ces communautés à retrouver leur fonctionnement après le passage du feu déterminerait la capacité de l'écosystème à 'cicatriser' grâce à l'amélioration de la fertilité des sols et de la productivité végétale. Hamman *et al.* (2007) ont montré que la biomasse microbienne sous une forêt de *Pinus ponderosa* du Colorado revenait à son niveau d'avant perturbation 14 mois après feu et ceci quel que soit le degré de sévérité de l'incendie (i.e. faible *versus* fort). Les auteurs ont cependant observé une modification durable de structure des communautés microbiennes au dépend des champignons. En région méditerranéenne, Dumontet *et al.* (1996) ont observé une réduction persistante de la biomasse microbienne pendant plus de 11 ans après un feu unique. Fioretto *et al.* (2005) ont rapporté une réduction immédiate des activités enzymatiques suivie de leur résilience rapide (quelques mois) malgré une baisse durable de biomasse. Hart *et al.* (2005) ont émis l'hypothèse que la résilience des communautés végétales post-incendie serait le facteur principal qui contrôlerait la dynamique de retour du fonctionnement microbien par la nature et la quantité de leurs apports (Figure 1.4).

La disponibilité des ressources, la composition d'une communauté en espèces adaptées aux perturbations ne sont pas les seules explications possibles d'un retour rapide des fonctions microbiennes. La nouvelle communauté peut en effet comporter des taxons qui sont fonctionnellement redondants avec ceux de l'ancienne communauté. Dans ce cas la fonction se maintiendrait après la perturbation et pourrait rapidement retrouver son niveau initial si la population qui l'exerce retrouvait également une abondance optimale. La redondance fonctionnelle d'une communauté est difficile à évaluer car elle requiert la connaissance précise des fonctions exercées par les différentes populations constitutives d'une communauté (Allison et Martiny, 2008). Les démonstrations empiriques d'un effet positif de la redondance fonctionnelle sont par conséquent très rares et souvent restreints à des communautés peu diversifiées (Fernandez *et al.*, 2000) ou expérimentalement manipulées (Wertz *et al.*, 2006).

1.2.2.2. Résistance et résilience des fonctions éco-systémiques des sols méditerranéens face à des stress environnementaux

Dans cette étude, la résistance et la résilience sont deux composantes mesurables de la stabilité des fonctions éco-systémiques (Pimm, 1984), la résistance étant la capacité inhérente d'une fonction à supporter un stress environnemental, tandis que la résilience est définie comme étant soit la capacité de cette fonction à retrouver son niveau initial (avant perturbation), soit la vitesse de ce retour (Holling, 1973 ; Grimm et Wissel, 1997) (Figure 5.1).

Les perturbations et les stress extrêmes engendrent la mort des micro-organismes ou induisent leur entrée en dormance (Suzina *et al.*, 2004). La mortalité et la sporulation des micro-organismes, en réduisant les effectifs de cellules actives, affectent directement les activités microbiennes impliquées dans les divers cycles biogéochimiques et, par voie de conséquences, perturbent le fonctionnement de l'écosystème. Cependant, la plasticité phénotypique et physiologique des micro-organismes leur permet de s'acclimater ou de s'adapter rapidement aux stress environnementaux. Par exemple, la paroi cellulaire rigide, épaisse et riche en peptidoglycanes des bactéries à Gram positif leur confère une résistance élevée aux cycles de dessiccation/ré-humectation. Ces stratégies physiologiques ont cependant un coût énergétique pour la cellule et nécessite une réallocation des ressources à la production de métabolites de survie (osmolytes, peptidoglycane, etc.) qui se fait nécessairement au dépens de la croissance (Janczur and Kozlowski, 2000), donc de la production et du renouvellement de la biomasse. Prise indépendamment, chaque espèce

microbienne présente un seuil de sensibilité différent au stress dont les effets sont variables d'une espèce à l'autre (Bååth, 1989). Par ailleurs, au sein d'une communauté, l'induction de la mortalité des espèces sensibles est favorable à la prolifération et à l'activité des espèces résistantes, en diminuant l'intensité de la compétition spatiale et en facilitant l'accès aux ressources nutritives. Ainsi, la diversité des mécanismes adaptatifs et de la compétitivité des espèces microbienne face aux stress environnementaux sont à la source des changements de composition des communautés et de diversité fonctionnelle. En effet, dans un contexte évolutif, les stress environnementaux constituent des pressions de sélection agissant sur l'évolution des communautés microbiennes particulièrement bien adaptées aux conditions du milieu et présentant une importante stabilité fonctionnelle (Atlas, 1984 ; Schimel *et al.*, 1999). Cependant, ces changements de diversité microbienne peuvent aussi altérer certaines activités enzymatiques telles que celles intervenant dans la décomposition de la matière organique ou dans les cycle biogéochimiques, comme cela a été vérifié par des mesures de la respiration des sols (Schimel *et al.*, 1999, Barajas-Aceves *et al.*, 1999 ; Keller *et al.*, 2004).

La stabilité des processus écologiques fait actuellement débat autour de deux hypothèses centrales et opposées. La première prédit des fonctions écologiques plus stables dans les écosystèmes non perturbés que dans les écosystèmes perturbés ou stressés (Loreau 2000). La seconde hypothèse prédit qu'un écosystème subissant des stress successifs est plus stable qu'un écosystème subissant un stress pour la première fois (Odum, 1981). En absence de stress ou de perturbation préalable, les ressources sont présumées suffisantes pour procurer l'énergie nécessaire à la reconstruction des dommages engendrés par un stress unique, et permettraient d'assurer la sauvegarde à un niveau minimal des fonctions de l'écosystème (allocation de l'énergie pour accroitre la reproduction ou l'espérance de vie) (phénomène d'habituation) (Aarts and Nienhuis 1999; Naeem and Li, 1997). A l'opposé, il est probable que les populations et/ou fonctions sélectionnées par des stress précédents supportent plus efficacement les stress ultérieurs, assurant ainsi une pérennité des fonctions (phénomène d'adaptation). Les hypothèses mécanistiques soutenant chacune des deux théories sont cependant nombreuses et les démonstrations empiriques sont souvent contradictoires. Une synthèse de ces travaux est proposée ci-dessous.

La résistance et la résilience des organismes peuvent être contrôlées par des facteurs biotiques tels que la composition en espèce des communautés (MacGallivray *et al.*, 2005) et la diversité (Tilman, 1996). De nombreux travaux relatent des effets négatifs de stress variés sur la biodiversité des sols (Giller *et al.* 1998) et en particulier sur la diversité microbienne

(Atlas *et al.*, 1991; Øvreås, 2000 ; Steenwerth *et al.*, 2005). Ainsi la corrélation positive théorique entre biodiversité et fonctions d'une communauté (Aarts and Nienhuis 1999; Yachi and Loreau 1999; Loreau 2000) implique un effet négatif des stress sur la stabilité fonctionnelle.

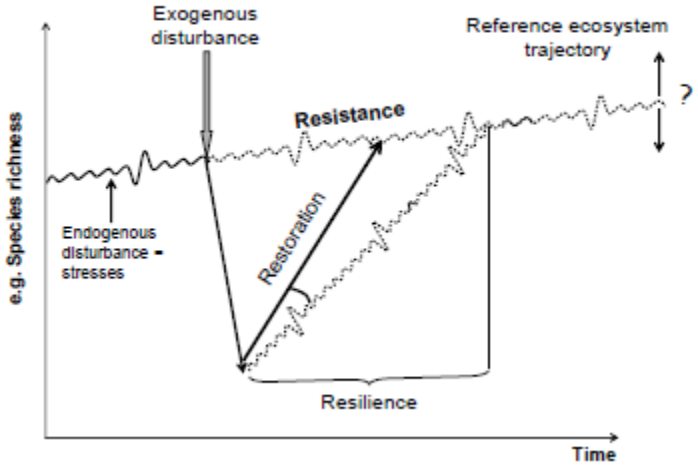


Figure 1.5 : Modèle théorique illustrant les concepts de résistance et de résilience après une perturbation (Pickett et White, 1985)

A l'opposé, les travaux récents de Wertz *et al.* (2006) ont montré que la réduction de diversité de différentes guildes microbiennes (groupes fonctionnels) - créées empiriquement par dilutions successives- n'entrainait pas une diminution de l'activité spécifique de ces guildes. Ces résultats suggèrent que l'importante diversité des micro-organismes du sol agirait comme une police d'assurance contre la perte de fonction faisant suite à une perte d'espèce. Degens *et al.* (2001) ont également montré que la diminution de la diversité des fonctions cataboliques, à la suite de pratiques agricoles diminuait la résistance des communautés microbiennes à divers stress. Des expériences précédemment réalisées sur des communautés végétales en laboratoire et sur le terrain, ont démontré qu'une plus grande richesse taxonomique favorisait la productivité primaire (Naeem *et al.*, 1994 ; Tilman *et al.*, 1997) et la résistance des communautés à la sécheresse (Tilman et Downing, 1994).

Différents mécanismes ont été proposés pour expliquer les relations positives entre la diversité des communautés microbiennes et leur stabilité fonctionnelle (Ekschmitt *et al.*, 2001 ; Emmerling *et al.*, 2002) :

- Une diversité élevée d'espèce impliquerait une forte diversité de seuils de tolérance et donc une plus forte capacité de résistance fonctionnelle.

- Une communauté, composée de nombreuses espèces redondantes pour une fonction donnée, est supposée présenter une forte probabilité de conservation de cette fonction si au moins une espèce survit à une perturbation.
- Une importante richesse fonctionnelle augmente la probabilité qu'au moins certaines espèces répondront différemment à une perturbation.

Par ailleurs, la mortalité des espèces sensibles induite par le stress favorisera la prolifération et l'activité des espèces résistantes, en diminuant la compétition et en facilitant leur accès aux ressources. Ceci peut conduire à des modifications de diversité et engendrer le développement de communautés particulièrement bien adaptées aux stress et présentant une importante stabilité fonctionnelle (Schimel *et al.*, 1999 ; Aarts and Nienhuis 1999). La stratégie démographique des micro-organismes, en d'autres termes l'efficacité d'utilisation des ressources et la stratégie physiologique d'allocation de l'énergie, est également un facteur potentiel pouvant contrôler la stabilité microbienne. Concernant les communautés végétales, les espèces à croissance lente (stratèges K) tendent à être résistantes mais non résilientes aux stress, tandis que les espèces à croissance rapide (stratèges r) sont résilientes mais non résistantes (Grime, 2001). Cette dichotomie de stratégies adaptatives qui existe également chez les micro-organismes bactériens (Gerson et Chet, 1981), suggère que la stabilité des communautés microbiennes du sol peut suivre la même tendance que celle des végétaux.

Certains facteurs abiotiques tels que la disponibilité en nutriments (Moore *et al.*, 1993), le pH (Wardle, 1998) ou la quantité de carbone et sa disponibilité peuvent également favoriser une importante stabilité. Par exemple, DeAngelis *et al.* (1989) puis Wardle (1998) ont montré que des fortes teneurs en carbone et en azote dans les sols permettaient une augmentation respectivement, de la résilience du réseau trophique et de la résistance de la biomasse microbienne. Wada et Toyota (2007) rapportent que la résistance et la résilience des activités oxydatives de l'ammonium et de minéralisation de substrats carbonés à des traitements de désinfection augmente après des amendements chimiques et organiques répétés.

Les connaissances actuelles sur les mécanismes d'altération des écosystèmes microbiens par les stress résultant du changement des contextes climatiques et édaphiques soulèvent les questions suivantes :

- Quelles sont les réponses physiologiques des populations des communautés microbiennes des sols méditerranéens soumis à des cycles de dessiccation/humectation?
- Les communautés microbiennes préalablement stressées ou perturbées sont-elles moins résistantes et/ou résilientes à des stress additionnels que les communautés non stressées et non perturbées ?
- Quelle est la part respective de la ressource, de la biomasse et de la diversité catabolique microbienne dans le maintien de la stabilité fonctionnelle des communautés microbiennes ?

1.3. Restauration de la qualité des sols

1.3.1. Concept de qualité des sols

Le sol est un système écologique complexe et le lieu de multiples échanges qui régulent les processus écologiques (Gobat *et al.*, 2003). Un dysfonctionnement partiel ou intégral du système nécessite une approche écologique qui intègre l'ensemble des processus liés à son fonctionnement. Selon O'Neill *et al.*, (1986), le bon fonctionnement d'un écosystème passe par l'intégrité des cycles de la matière et des flux d'énergie, par sa stabilité structurale et par la capacité de résilience après un stress ou une perturbation. Le sol étant le support des écosystèmes, il est directement exposé aux agressions anthropiques et aux perturbations naturelles. L'altération de l'intégrité des sols et de ses fonctions peut alors affecter le fonctionnement de l'écosystème dans sa totalité.

L'intérêt porté par une société pour un milieu, et en particulier pour un sol, dépend fortement des usages possibles de la ressource et donc des richesses qu'elle en tirera. En ce sens, le concept de qualité des sols est une notion subjective et très dynamique. La fertilité, la productivité, la durabilité des ressources et la qualité environnementale sont les principales bases des définitions historiques de la qualité des sols. Les définitions pléthoriques ont donné lieu à de nombreux critères d'évaluation et d'interprétation. Gros (2002) définit sur une base bibliographique la qualité d'un sol comme étant « …sa capacité à assumer ses fonctions de productivité, à contribuer à la protection de la santé des écosystèmes et de la qualité de l'eau

contre les agressions anthropiques, et à retrouver après une perturbation un fonctionnement physique, chimique et/ou biologique identique ou proche du fonctionnement initial dans un temps court à l'échelle humaine ». Plus récemment, Cécillon (2008) propose de dépasser cette vision du sol centrée sur l'objet et ces fonctions écologiques que lui confère sa position d'interface entre la lithosphère, l'hydrosphère et l'atmosphère. L'auteur suggère une autre approche plus pragmatique, centrée sur l'homme et ses besoins vis-à-vis des sols. Cette vision peut compléter idéalement une conception plus écologique de la qualité des sols au sein d'une entité régionale marquée par une longue histoire co-évolutive entre Nature et Usages.

Quelle que soit la définition conceptuelle de la qualité des sols, il apparaît évident que cette qualité dépend de multiples facteurs. Il faut distinguer ceux intrinsèques aux sols comme les facteurs chimiques, physiques et biologiques, et ceux d'origines externes comme le climat. L'évaluation de la qualité des sols peut être réalisée par de simples observations ou des mesures qualitatives très complexes (Mausbach et Tugel, 1997). Les indicateurs de la qualité des sols sont des propriétés physiques, chimiques et biologiques dont la mesure doit permettre d'appréhender les fonctions essentielles. Caractériser la qualité des sols passe par l'utilisation d'indicateurs pertinents qui intègrent leur grande variabilité spatiale et temporelle dont les propriétés intrinsèques évoluent à différentes échelles (Doran et Parkin, 1994).

Pour que les indicateurs répondent de façon optimale aux besoins de l'évaluation de la qualité des sols dans l'espace et le temps, ces auteurs proposent quatre critères de sélection :

- Les indicateurs de la qualité des sols doivent traduire les processus qui ont lieu au sein de l'écosystème
- Ils doivent également intégrer des propriétés et des processus physiques, chimiques et biologiques et servir de base à l'estimation de propriétés du sol ou de fonctions qu'il est plus difficile de mesurer directement
- Etre sensibles aux variations anthropiques et naturelles sur le long terme
- Faire partie intégrante de bases de données existantes lorsque c'est possible.

1.3.1.1. La qualité chimique des sols

Le sol est avant tout le réservoir qui stocke et redistribue les nutriments sous forme d'ions indispensables à la vie des plantes. Un sol fonctionne comme un système chimique ouvert en recevant mais aussi en fournissant ces ions. Les sources d'apport de ces ions sont multiples (atmosphériques, hydriques, pratiques agricoles). La qualité chimique d'un sol est donc contrôlée par des facteurs externes (e.g. la situation géographique, le climat, les connections avec des écosystèmes voisins) mais également par facteurs internes (e.g. l'activité microbienne, relation entre les organismes) qui régulent la disponibilité de la ressource chimique (Tessier *et al.*, 1996). Les propriétés chimiques d'un sol conditionnent les processus biologiques qui s'y déroulent. L'altération de cette qualité chimique peut donc perturber le fonctionnement biologique d'un sol. Le fonctionnement d'un écosystème est régi par des boucles de rétroaction (ou « feedback loops ») entre la ressource organique apportée par les plantes et les communautés microbiennes qui la minéralisent apportant ainsi les nutriments aux plantes (Bever, 2003). Ces boucles de rétroaction conditionnent la disponibilité de la ressource minérale d'un sol, elle-même régie par des mécanismes écologiques tels que la compétition, la facilitation et le mutualisme entre les communautés végétales et les communautés microbiennes (Wardle, 2002).

1.3.1.2. La qualité physique des sols

La qualité physique des sols est étroitement liée à la structure des sols, c'est-à-dire à la façon dont les constituants minéraux et organiques sont assemblés les uns par rapport aux autres. C'est en effet dans ces différents vides que l'eau et les gaz circulent ou sont stockés et que les êtres vivants peuvent se développer (Tessier *et al.*, 1996). La macro-faune et les micro-organismes sont les principaux acteurs de la structuration des sols. Notamment l'action des lombrics qui déplacent, retournent, aèrent les sols et augmentent la cohésion entre particules au travers leurs déjections et les micro-organismes qui synthétisent des polysaccharides qui agglomèrent les particules entre elles. L'action des racines n'est pas à négligée à la fois en terme de protection des sols et d'aération (e.g. augmentent la porosité des sols). En effet, la stabilité de la structure, c'est-à-dire la permanence de structure sous l'effet de différents agents d'agression (e.g. pluies, vents et animaux) est un aspect très important de la qualité physique des sols. Cette structure détermine les vides nécessaires à la vie c'est-à-dire le transport des gaz, des solutés et la circulation de l'eau, ou encore leur stockage

permettant aux êtres vivants de se développer. La matière organique est un véritable ciment pour la structure des sols, de même que la qualité chimique possède une réelle influence sur la stabilité structurale notamment les ions monovalents Na sur le complexe d'échange qui ont une forte influence négative. La structure des sols est responsable de la retenue de l'eau disponible pour les plantes. En effet, l'eau stockée dans les sols (i.e. liée par capillarité) est d'autant plus grande que les pores sont de petite taille et nombreux. La quantité d'eau disponible est donc liée à la porosité des sols et à leur profondeur. La perméabilité des sols joue également un rôle important dans la vitesse d'infiltration des eaux de pluie. Cependant en cas de fortes pluies, le ruissèlement est inévitable d'autant plus si les sols ont été récemment incendiés. Les sols ont tendance à se dessécher pendant la période estivale et se rechargent en eau à l'automne et l'hiver jusqu'à saturation, c'est-à-dire qu'ils atteignent la capacité au champ (i.e. quantité maximale d'eau que peut retenir un sol).

1.3.1.3. La qualité biologique des sols

Les organismes du sol sont responsables, directement ou indirectement, de nombreuses fonctions clés du fonctionnement des sols. Celles-ci incluent la décomposition des résidus animaux et végétaux, la transformation et le stockage des nutriments, les échanges gazeux et hydriques, la formation et la stabilisation de la structure du sol, la synthèse des composés humiques et la dégradation des molécules xénobiotiques (Dick, 1997). L'abondance, l'activité et la diversité des micro-organismes sont autant d'indicateurs reflétant cette qualité biologique et permettant de caractériser les niveaux de fonctionnement des sols. Les micro-organismes ont un rôle fondamental dans la minéralisation de la matière organique (Vance et Chapin, 2001). Les activités hydrolytiques et oxydatives des protéines enzymatiques sont par conséquent des indicateurs potentiels de la qualité biologique des sols (Graham et Haynes, 2004 ; Mijangos *et al.*, 2006). Les deux paramètres microbiologiques les plus communément mesurés pour évaluer la réponse des micro-organismes à des changements de leur milieu, sont des mesures globales telles que la taille des populations bactériennes (dénombrement) et la mesure de la biomasse des sols. Les techniques de dénombrement s'avèrent imprécises du fait de leur trop grande sélectivité, les espèces cultivables recensées ne représentant qu'une très faible fraction de la communauté microbienne du sol (0,1 à 10 % selon Ward *et al.*, 1990). Le manque de résolution de cette mesure constitue son point faible, et la biomasse du sol nécessite d'être complétée par des méthodes plus informatives sur les processus sensibles à une modification de la qualité du sol. Les mesures d'activités globales

(respiration, activités enzymatiques) complètent les mesures de dénombrement et de biomasse dans l'évaluation de la réponse des micro-organismes à des changements affectant la taille de la communauté (Dilly et Munch, 1998, Aparecida *et al.*, 2005). Ces approches globales donnent une vision d'ensemble du fonctionnement microbien du sol mais restent descriptives. Les modifications dans des groupes fonctionnels qui accomplissent des fonctions essentielles dans le sol, apportent des informations sur le fonctionnement à l'échelle de l'écosystème. Les exemples les plus couramment rencontrés concernent des groupes microbiens qui interviennent dans les différentes étapes du cycle de l'azote (Barnard *et al.*, 2004, Patra *et al.*, 2005, 2006).

1.3.2. Définitions et concepts utilisés en restauration écologique

La restauration écologique est une action intentionnelle qui initie ou accélère l'autoréparation d'un écosystème en respectant sa santé, son intégrité et sa gestion durable (SER, 2004). La plupart du temps, l'écosystème qui a besoin d'être restauré a été dégradé, endommagé, transformé ou totalement détruit, résultat direct ou indirect de l'activité humaine. La Société pour la Restauration Ecologique (SER) donne une définition générale permettant une large gamme d'approches de la restauration bien qu'elle donne une importance historique au concept d'autoréparation.

Au delà de cette définition généraliste, différentes notions s'appliquent aux divers processus conduisant, selon l'état de dégradation initial, à différents types d'écosystèmes restaurés (Figure 1.5). Ainsi, la restauration au sens strict peut consister selon Aronson *et al.* (1993) en une simple suppression des causes de dégradation ou la ré-application des usages traditionnels. Lorsque la perturbation est modérée, ces actions conduisent à une restauration progressive de l'écosystème. La restauration naturelle de l'écosystème (SER, 2004) peut être différée lorsque l'intensité d'une perturbation franchit un certain seuil d'irréversibilité (Aronson *et al.*, 1993). La restauration consiste alors à corriger les multiples changements imposés par la perturbation à l'écosystème (SER, 2004) ou la réhabilitation selon Aronson *et al.* (1993). Lorsque les seuils d'irréversibilité ne peuvent pas être tous refranchis par une action de restauration, l'écosystème peut alors être réhabilité. Dans ce cas la réhabilitation conduit à un écosystème restauré alternatif, c'est-à-dire dont la productivité, les processus et les services ont été réparés mais pas l'intégrité de l'écosystème de référence (SER, 2004). La récupération (« reclamation » en anglais) (SER, 2004), la réallocation (Aronson *et al.*, 1993)

ou encore l'ingénierie écologique (Odum, 1962) définissent des actions dont l'objectif n'est pas d'atteindre l'état d'un écosystème de référence mais par exemple de supprimer une pollution ou de ralentir l'érosion, donc de prévenir les risques et de garantir la sécurité publique (SER, 2004).

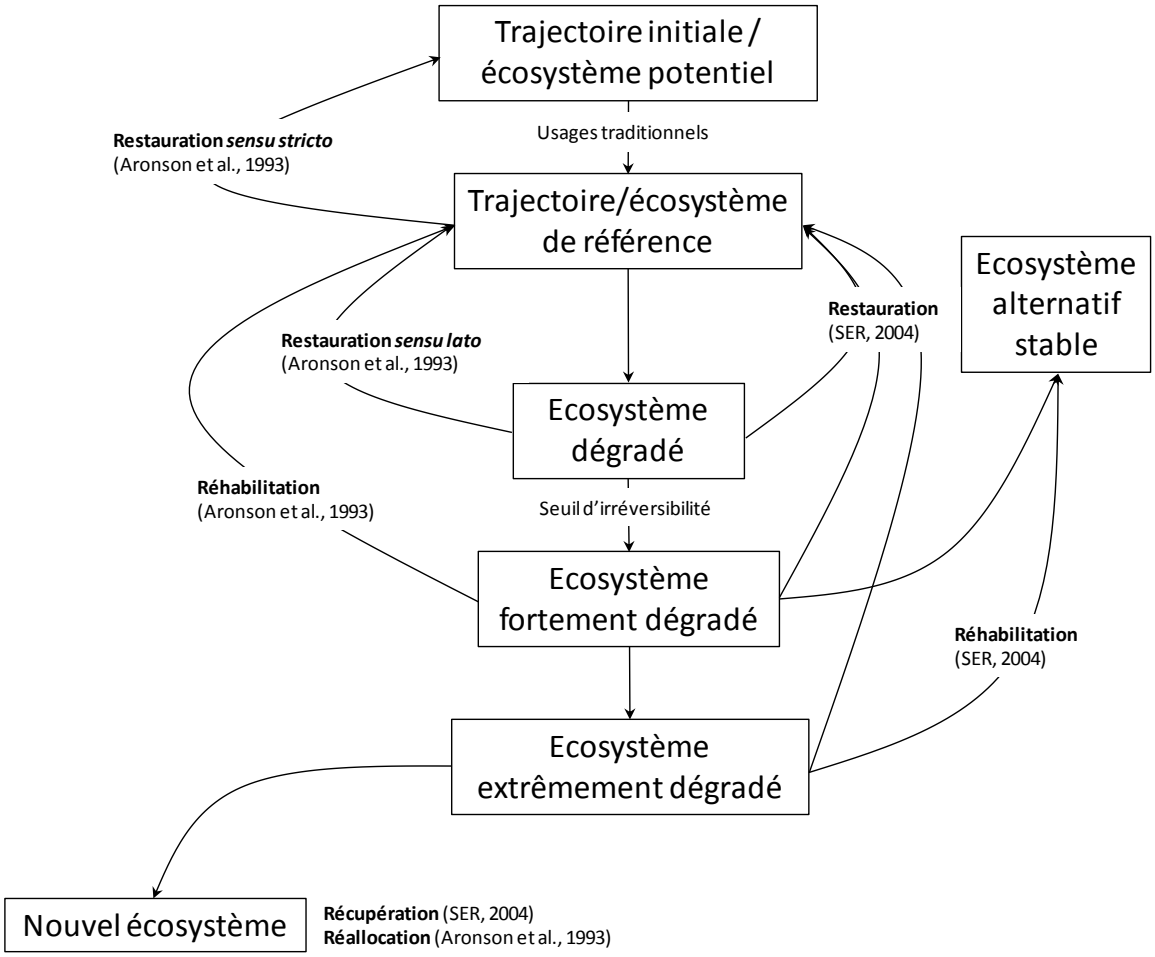


Figure 1.6 : Modèle général décrivant les processus de dégradation / restauration des écosystèmes et définissant différents concepts (Aronson *et al.*, 1993 modifié par Buisson, 2005)

La définition des objectifs de restauration est donc une étape préalable essentielle à tous projets de restauration car elle permet de suivre la progression du processus et d'évaluer le succès de l'opération. Ces objectifs sont fréquemment définis par l'état d'un écosystème non perturbé désigné « écosystème de référence ». En effet, l'étude approfondie de cet écosystème de référence fournit des informations pertinentes notamment dans la compréhension des processus clés, permettant d'évaluer la trajectoire de la restauration. Ces

informations fournissent un certain nombre de critères pouvant être utilisés pour estimer le degré de dégradation d'un écosystème perturbé et donc la 'distance' entre la situation réelle (perturbée) et la restauration complète correspondant à l'écosystème de référence.

La restauration écologique se heurte à un autre choix difficile qui est la nature des informations relatives à l'écosystème de référence : historiques (photos, enregistrements, cartes, archives, données paléoécologiques), modernes (usage actuel) et/ou fonctionnelles.

Chacune des approches répond à des attentes différentes. Par exemple, les données historiques soulèvent un certain nombre de problèmes : les informations ne sont pas toujours disponibles et toutes les informations paléo-écologiques ne sont pas nécessairement pertinentes. Toutes les méthodes basées sur l'information passée souffrent de ce que l'on appelle le 'syndrome de cible mouvante' (Figure 1.6). Un écosystème suivra, en l'absence de perturbation, une trajectoire naturelle le conduisant à un état actuel différent de son état d'origine. Cette évolution naturelle pose le problème du choix de la cible de référence entre l'état d'origine et l'état actuel (Harris et Van Diggelen, 2006). Par ailleurs, le choix d'un écosystème moderne comme référence n'assure par nécessairement un état proche d'un optimum écologique. De plus, l'écosystème de référence ne doit pas être menacé ou vulnérable à un futur changement des conditions environnementales ou à un usage actuel inadapté. La restauration écologique intègre donc la notion de durabilité de l'état atteint par l'écosystème. La référence fonctionnelle intègre des paramètres tels que la productivité primaire, les flux d'énergie ou les régimes hydrologiques. Ces propriétés sont émergentes et difficilement manipulables. Cependant, les processus fonctionnels à une échelle plus réduite, par exemple sur un compartiment de l'écosystème (e.g. le sol), peuvent faire l'objet d'une redynamisation et éventuellement d'une restauration de ses fonctions écologiques. En réalité, choisir entre les différentes références citées ci-dessus serait une erreur. La restauration des écosystèmes ne sera efficace (i.e. écosystèmes réellement autonomes), que si nous intégrons une combinaison de ces approches dans un contexte de services écosystèmiques.

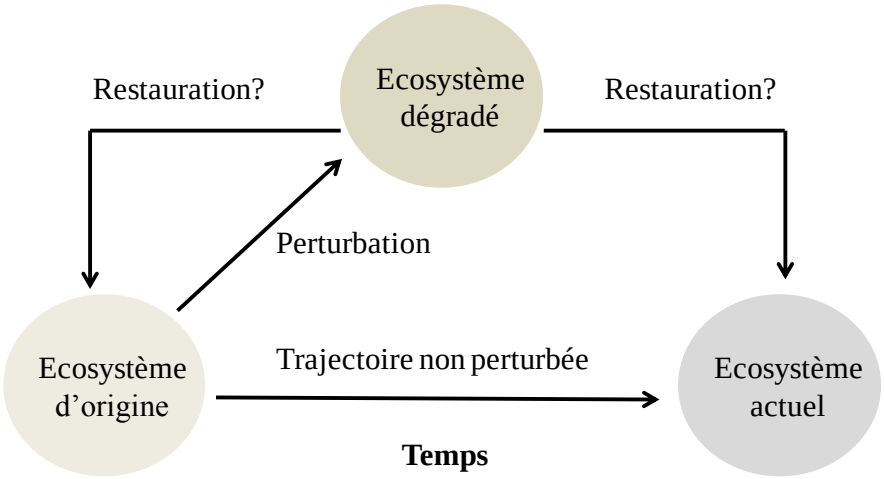


Figure 1.7 : Illustration schématique du syndrome de la cible mouvante (d'après Harris et Van Diggelen, 2006).

Si l'écosystème de référence est difficile à définir, le succès d'une restauration l'est donc autant. Idéalement, les modifications au cours du temps de la restauration devraient être les mêmes que sans l'intervention de l'homme, avec seulement une vitesse beaucoup plus rapide. Cependant, en pratique, il se produit souvent des erreurs. Il est donc nécessaire de mesurer et de suivre l'évolution de la restauration et de sa réussite (i.e. complète et appropriée). Les programmes de restauration doivent donc intégrer des suivis dans le temps jusqu'à la restauration complète de l'écosystème. Les indicateurs écologiques utilisés doivent remplir un certains nombre de critères selon Dale et Beyeler, (2001): Ils doivent:

- Être facilement mesurables
- Être sensibles aux pressions anthropiques
- Permettre d'anticiper de plus large problèmes
- Permettre d'adapter la méthode de gestion si besoin
- Répondre aux stress, perturbations et temps et avoir une forte reproductibilité.

En outre, les programmes de restauration doivent s'assurer que la variation spatiale et temporelle soit intégrée dans les mesures de la qualité du système étudié. Pour dissocier les trajectoires de restauration et d'évolution naturelle, nous avons donc besoin d'avoir une connaissance profonde de notre système écologique (i.e. physique, chimique et biologique) (Heneghan *et al.*, 2008; Figure 1.7). Lorsque les sites sont fortement dégradés, l'amélioration des fonctions du sol peuvent être atteintes par des manipulations simples d'un seul facteur chimique (C), physique (P) ou biologique (B). Pour une meilleure progression vers un objectif

cible, une augmentation du degré de complexité de la connaissance du système écologique est nécessaire et considérer les interactions entre les composantes C, P and B devient essentiel.

Cette connaissance du système écologique, ici le sol, nous renseigne sur son niveau d'organisation et le nombre d'interactions entre les composantes du système dont la complexité augmente lorsque qu'on se rapproche du niveau de référence. Cette connaissance sur l'écologie des sols ou Soil Ecological Knowledge (SEK) est donc nécessaire pour évaluer sa restauration.

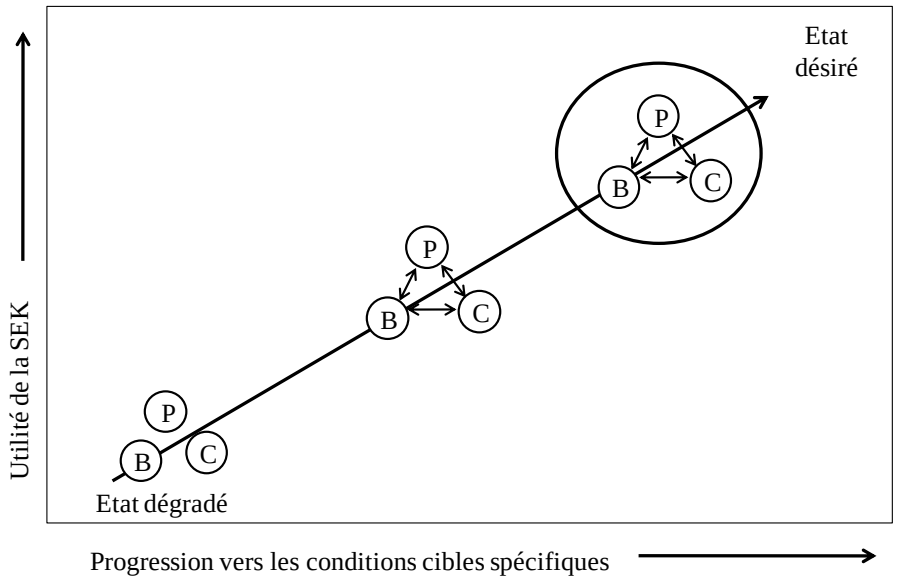


Figure 1.8 : Schéma de liaison entre la 'Soil Ecological Knowledge' (SEK) et les modèles théoriques existant de la restauration des écosystèmes (Heneghan *et al.*, 2008).

1.3.3. Restauration de la qualité des sols

La restauration d'un sol tend vers le retour de sa qualité d'avant perturbation. Les conditions historiques sont, de ce fait, un point de départ idéal pour un plan de restauration. L'écosystème restauré ne va pas nécessairement retrouver son stade antérieur, puisque des contraintes et des conditions actuelles peuvent l'entraîner vers une trajectoire altérée. Cependant, la direction et les limites générales de cette trajectoire peuvent être établies par une **combinaison de connaissances sur la structure préexistante de l'écosystème endommagé, sa composition et son fonctionnement**.

Face aux divers types de dégradations notamment dans le bassin méditerranéen (*cf.* § 1.5), il existe diverses techniques de restauration (e.g. ré-végéalisation, apport de ressources…). Ces opérations de restauration passent par la mise en œuvre de techniques de

génie écologique qui sont employées en fonction du type et de l'intensité de dégradation et impliquent la manipulation de matériaux naturels, d'organismes vivants et de l'environnement physico-chimique. Ces interventions volontaires sur le milieu concernant des travaux de sol nécessitent au préalable la mise en place de mesures de protection. La nécessité de restaurer les sols dégradés devrait passer par la sensibilisation des populations à leur préservation, qui peut passer par le changement des pratiques locales ou nationales voire internationales (SER, 2004).

1.3.3.1. Restauration de la qualité des sols incendiés par l'apport de compost

Le feu détruisant la végétation et les sols entraine à la fois la perte directe et à long terme des ressources du sol (MO) et des communautés microbiennes dont les activités minéralisatrices déterminent la disponibilité des nutriments.

En France, l'apport de matières organiques exogènes sous forme de composts est majoritairement utilisé en agriculture pour leur valeur d'amendement (ADEME, 2002) mais sont toutefois réglementées (<20 t MS /ha) pour éviter les problèmes d'eutrophisation en phosphore et azote mais également le risque de pollution aux métaux lourds (Cd, Cr, Pb, Zn) (Toribyo et Romanyà, 2005). Les sols dont l'érosion a entrainé la perte de matière organique comme après le passage d'un feu, sont rarement fertilisés principalement par manque de législation et pour éviter les mêmes risques qu'en agriculture d'autant que les apports sont uniques et souvent beaucoup plus importants (jusqu'à 195 t C /ha). Cependant, les recherches scientifiques appliquées sur les bénéfices de ces apports sur la qualité chimique, physique et biologique des sols sont très étudiées dans de nombreuses situations écologiques (Borken *et al.*, 2002 ; Crecchio *et al.*, 2004 ; Adani *et al.*, 2007), dans de nombreux cas de perturbation de sols (Caravaca *et al.*, 2003) dont les incendies (Guerrero *et al.*, 2000, 2001 ; Larchevêque *et al.*, 2005 ; Kowaljow et Mazzarino, 2007).

Les composts de boues de stations d'épuration constituent une forte source de MO, de nutriments et de biomasse microbienne et pourraient être un bon moyen pour remédier aux effets négatifs de la récurrence du feu. En effet, cette dernière pourrait entrainer l'érosion des sols et altérer à long terme la capacité naturelle des écosystèmes méditerranéens à 'cicatriser'.

1.3.3.2. Restauration de la qualité chimique des sols incendiés

La restauration de sols dégradés peut être caractérisée par la qualité de la matière organique apportée au sol (Graham et Haynes, 2004 ; Giai et Boerner, 2007). L'apport de compost riche en MO sur des sols incendiés augmente le stock de carbone organique total (COT) et l'azote (N) Kjeldahl (Larchevêque *et al.*, 2005 ; Ros *et al.*, 2006) dont l'effet augmente avec la dose (Guerrero *et al.*, 2001) et ceci jusqu'à 30 cm de profondeur (Meyer *et al.*, 2004). Cependant, les expériences d'amendement de compost ne montrent pas les mêmes réponses quant à la disponibilité du phosphore organique (Giusquiani *et al.*, 1995 ; Guerrero *et al.*, 2001) probablement dû aux différentes teneurs des composts utilisés et donc de leurs qualités. La bonne stabilité de la matière organique d'un compost permet de maintenir une disponibilité importante du C et du N sur le long terme contrairement aux sols non amendés (Guerrero *et al.*, 2001). Cette disponibilité à long terme constitue un des traits positifs de l'apport exogène de cette matière en améliorant les propriétés physico-chimiques et biologiques du sol dans le temps favorisant le retour rapide de la végétation et minimisant le risque d'érosion des sols (Guerrero *et al.*, 2001).

1.3.3.3. Restauration de la qualité physique des sols incendiés

L'apport de compost améliore les propriétés physiques des sols incendiés en augmentant la cohésion des sols par l'augmentation de la stabilité des agrégats entre 2 et 4 mm (Guerrero *et al.*, 2000). Ces effets positifs peuvent être le fait d'une amélioration de la qualité biologique (biomasse bactérienne et fongique) responsable de la synthèse de polysaccharides (Robert et Chenu, 1992) ou encore de l'augmentation de l'hydrophobicité dont on sait qu'ils sont des facteurs stabilisant de la structure des sols. Elle peut aussi provenir d'une diminution de la mouillabilité des agrégats induite par des lipides, ce qui ralentit la vitesse de pénétration de l'eau et réduit le risque d'éclatement pendant l'humidification (Chenu et al., 2000). Par ailleurs, les champignons peuvent avoir un rôle de protection physique par enchevêtrement des particules grâce à leurs hyphes (Thèse de Annabi M., 2005).

1.3.3.4. Restauration de la qualité biologique des sols incendiés

De nombreuses études tendent à montrer les effets bénéfiques d'apports de composts simplement dans l'amélioration du fonctionnement biologique de sols forestiers (Ros *et al.*, 2006), dans la restauration de la qualité des sols perturbés (Borken *et al.*, 2002) et même complètement détruits, notamment après le passage du feu (Guerrero *et al.*, 2000, 2001 ; Larchevêque *et al.*, 2005, Kowaljow et Mazzarino, 2007).

Un amendement de compost se traduit par une augmentation de la biomasse microbienne des sols directement par la biomasse contenue dans le compost et indirectement par un accroissement des ressources disponibles aux micro-organismes hétérotrophes (Albiach *et al.*, 2001). Bugbee (1996) a observé le développement d'une population de bactéries nitrifiantes dans un substrat comportant du compost. Le développement de la biomasse du sol atteint son optimum un mois après l'amendement du compost. Des quantités importantes de nutriments sont alors stockées dans cette biomasse et auront un effet fertilisant à long terme. La biomasse bactérienne est un indicateur sensible d'une diminution à long terme des teneurs en matière organique résultant par exemple d'une perturbation d'un écosystème naturel (Weigand *et al.*, 1995).

Les mesures d'activités microbiennes complètent les mesures de dénombrement et de biomasse dans l'évaluation de la réponse des micro-organismes à des changements affectant la taille de la communauté et renseignent sur la dynamique de transformation de la matière organique en éléments minéraux. Borken *et al.* (2002), ont montré une augmentation de la respiration après apport de compost. Ils en concluent qu'un amendement de compost permet une augmentation de l'activité microbienne globale et une élévation de la biomasse. Garcia-Gil *et al.*, (2000) montrent que leurs amendements augmentent les activités enzymatiques oxydo-réductrices très fortement (déhydrogénases et catalases) en raison des fortes teneurs en carbone facilement biodégradables. En revanche, leurs activités hydrolases exhibent des réponses différentes : Les activités phosphatases et uréases diminuent tandis que les activités β-Glucosidases et protéases augmentent à la suite de leurs apports. Les deux premières diminuent en raison de l'augmentation de la disponibilité du P et du N qui ne sont plus limitant. En revanche les deux dernières augmentent à cause de la demande énergétique microbienne qui s'accroit avec la biomasse mais peut également provenir des communautés microbiennes exogènes apportées avec le compost.

Un amendement se traduit par une modification de la communauté microbienne (composition) des sols, soit directement en introduisant des micro-organismes contenus dans le produit, soit indirectement sous l'effet des apports nutritifs. Il se produit donc un remaniement des communautés indigènes des sols traités pouvant ainsi modifier leur diversité fonctionnelle catabolique (Gomez *et al.*, 2006) et voire même induire l'augmentation de la biodiversité (Peacock *et al.*, 2001).Cette modification résulte également de l'augmentation de la compétition et/ ou de l'antagonisme entre les organismes (Steinberg, 2004). La diversité des micro-organismes peut être perçue sous l'angle de la diversité spécifique ou encore sous l'angle de la diversité fonctionnelle. La capacité des micro-organismes à oxyder les différents substrats est très utilisée pour l'estimation de leur diversité fonctionnelle (Gomez *et al.*, 2006).

1.4. Synthèse et conclusions de l'étude bibliographique

Dans la zone méditerranéenne, il existe une forte imbrication entre l'urbanisation et les espaces naturels, agricoles et forestiers. Avec plus de 1 300 000 hectares, la forêt de la région Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA) se place au 3ème rang en France et représente un enjeu fort dans la vie quotidienne et l'aménagement du territoire, même si la production ligneuse a souvent une valeur économique limitée. D'autre part, la fréquence des incendies fait peser une menace permanente sur la sécurité publique et sur la qualité du cadre de vie. Enfin la dynamique de la biodiversité est fortement influencée par le régime de perturbations. Le souci social et politique de la reconstitution de la forêt après les grands feux (exacerbé en 2003) doit être éclairé par une évaluation objective de la dynamique des milieux sous un régime d'incendies répétés, donc en tenant compte de la capacité de résilience réelle de l'écosystème méditerranéen. Dans les sites fréquemment brûlés, l'érosion et le brûlage appauvrissent progressivement le sol en matière organique (Chandler *et al.*, 1983). La vie du sol s'affaiblie en biomasse et en diversité (Pietikäinen, 1999 ; Overby *et al.*, 2006). Cette destruction conduit à la persistance, et donc à la résilience, des stades régressifs de végétation (garrigues) après incendie qui occupent des surfaces importantes et à partir desquels la reconstitution spontanée de peuplements forestiers feuillus est très difficile. La quantité de matière organique, sa qualité chimique et son accessibilité, sont des facteurs clés de la reconstitution des écosystèmes (Young *et al.*, 2005). L'apport de matière organique, par une ré-végétalisation dirigée et par des amendements organiques, pourrait s'avérer être un moyen efficace de favoriser la régénération du milieu naturel, en facilitant le 'déblocage' dans la dynamique de

végétation, en restaurant la structuration physique et en stimulant l'activité biologique du sol. De plus, les amendements sur sol incendié constituent une voie de valorisation des produits résiduels organiques, s'intégrant dans la mise en place d'une gestion raisonnée de ces produits, préoccupations majeures des acteurs locaux, nationaux et même internationaux dans le cadre d'une politique de développement durable. Le suivi et l'évaluation du succès de restauration de la qualité des sols nécessitent le choix préalable d'un écosystème de référence et donc nous impose d'établir le lien et l'équilibre existant entre les écosystèmes méditerranéens et le feu. Une connaissance approfondie des propriétés des écosystèmes dégradés et de l'écosystème de référence est également nécessaire.

Cette synthèse bibliographique a enrichi nos connaissances dans le domaine et a servi de base pour la construction des plans d'expérience et le choix des indicateurs, détaillés dans le deuxième chapitre de cette thèse : Matériels et Méthodes.

Chapitre 2

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Outre la présentation détaillée de la zone d'étude et de l'ensemble des parcelles de terrain sélectionnées au cours de la thèse, ce chapitre a pour but de décrire précisément les principes et les protocoles de toutes les méthodes analytiques mises en œuvre dans ce travail. Dans les chapitres suivants, nous rappellerons les méthodologies expérimentales et protocoles analytiques spécifiques des questions traitées.

2.1. Zone d'étude

Situation géographique : La zone d'étude (environ 9100 ha) se situe dans l'Est du massif des Maures, au Sud-Est de la France, dans le département du Var (Figure 2.1). Ce massif de petite montagne bordant la mer Méditerranée présente une série de trois crêtes culminant entre 400 m et 750 m, orientées Est-Ouest, séparées par des vallées encaissées présentant des versants en pente forte. Elle s'étend d'Est en Ouest entre les communes de 'Saint Aygulf' et 'Plan-de-la-Tour', et du Nord au Sud entre les communes de 'Roquebrune-sur-Argens' et 'Sainte-Maxime'.

Climat : Le climat de cette région est typiquement méditerranéen, avec des hivers doux et humides et des étés très chauds et secs (données Météo France, moyennes calculées sur la période 1961-2002). La température moyenne annuelle va de 14.5°C au niveau de la côte à 12°C dans le coeur du massif en altitude. La pluviométrie moyenne dans le massif est de 919 mm/an mais sa variabilité interannuelle est très forte (300 à 1800 mm).

Géologie : Pour l'essentiel, les roches du massif des Maures sont des roches très anciennes formées entre la fin du Protérozoïque et la fin du Paléozoïque. Il s'agit de roches cristallophylliennes et cristallines. Le site d'étude repose sur des gneiss de type migmatitique (Debrand-Passard *et al.*, 1984) qui proviennent d'un métamorphisme général très poussé donnant l'aspect de granite et caractérisés par l'alternance de superposition de lits sombres de minéraux ferromagnésiens (micas, amphiboles) et de lits clairs de quartz et de feldspaths.

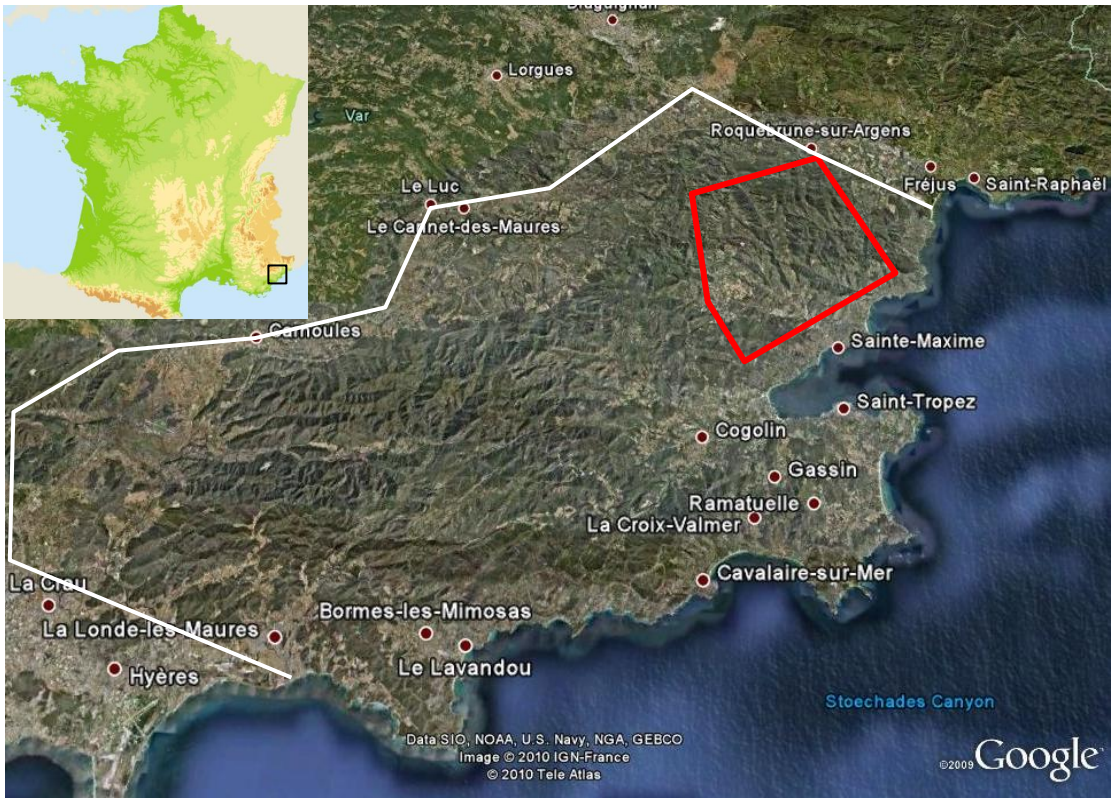


Figure 2.1 : Localisation géographique du massif de Maures (délimitation en blanc) et de la zone d'étude (délimitation en rouge).

Pédologie : Une altération importante de sols de type Cambisol Dystric (IUSS Working Group WRB, 2006), consécutive aux incendies, conduit à la formation de sols squelettiques et peu différenciés de type Leptosol Dystric (IUSS Working Group WRB, 2006). Les sols altéritiques présentent un profil de type A, C, R (pH = 6-6,5). La couche de litière (horizons organiques) est le plus souvent de faible épaisseur (1-3 cm), généralement bien différenciée de l'horizon A. L'horizon A est épais de 5 cm, à teneur variable en éléments grossiers (10-30%). L'horizon C rocheux est altéré, de 10 à 25 cm d'épaisseur, à dominante d'éléments grossiers (50-80%), avec passage progressif à la roche-mère. Le cambisol non incendié depuis au moins 57 ans présente un profil A, B, C, R, plus épais (50-60 cm). L'horizon B, lorsqu'il est présent, est peu marqué, de 10 à 15 cm d'épaisseur, très peu organique, avec une forte teneur en éléments grossiers (20-40%). Aucune des placettes ne présente de strate colluviale significative en surface. La texture des deux profils est globalement sablo-limoneuse à forte dominante sableuse (60-80%). Des affleurements rocheux peu ou non altérés sont présents (5-15%) dans la plupart des placettes, notamment dans 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.

Sur l'ensemble de la zone, on note un horizon superficiel irrégulier en épaisseur (0,5-3 cm) et de fort recouvrement (40-90%) très structuré en granulés d'ordre millimétrique à centimétrique, issu du démembrement ou de l'érosion des turricules de vers de terre (Cécillon, 2008). 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 l'enfouissement de la litière. 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.

Végétation : La zone d'étude présente une végétation globalement homogène dans sa composition. Un étage dominant de chênes liège (*Quercus suber* L.) de 5 à 10 m de haut, plus ou moins clair (10-70%), domine un maquis dense de 3 à 7 mètres. Ce maquis est composé majoritairement bruyères arborescentes et d'arbousiers (*Erica arborea* L. et *Arbutus unedo* L.) dans les zones non brûlées depuis longtemps, accompagnés par des cistes (*Cistus monspeliensis* L., *C. salviifolius* L. et *C. albidus* L.) et du calycotome épineux (C*alicotome spinosa* L.) dans les zones récemment brûlées. Le chêne vert et le chêne blanc (*Q. ilex* L. et *Q. pubescens* L.) sont présents de façon disséminée dans les zones brûlées, et peuvent dominer dans les très rares forêts anciennes. 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 ne dépassant pas quelques hectares, d'arbres isolés et de jeunes régénérations.

2.2. Parcelles d'étude : histoire d'incendie, caractéristiques générales et échantillonnage

Histoire d'incendie : Vingt sept parcelles d'étude d'environ 400 m^2 chacune ont été sélectionnées pour le projet IRISE dans la zone décrite précédemment (Figure 2.2). Une analyse des images satellites de la zone, complétée par une étude de données historiques, a permis de déterminer précisément les dates des feux, sur la période de 1950 à 2007, pour les

27 parcelles (Tableau 2.1). A partir de ces données, nous avons défini 6 modalités qualitatives de régime d'incendie (Figure 2.3) :

1 - Modalité **NB-1950** regroupant 5 parcelles indépendantes non brûlées depuis au moins 1950; Cette modalité est définie par le code NB-57yrs dans le chapitre 3.
2 - Modalité **IB-1990** regroupant 5 parcelles indépendantes ayant subi peu de feux (1 ou 2) dont le dernier a eu lieu en 1990 ou 1982; Cette modalité est définie par le code IB-17yrs dans le chapitre 3.
3 - Modalité **FB-1990** regroupant 4 parcelles indépendantes ayant subi de nombreux feux (4) dont le dernier a eu lieu en 1990; Cette modalité est définie par le code FB-17yrs dans le chapitre 3.
4 - Modalité **IB-2003** regroupant 5 parcelles indépendantes ayant subi peu de feux (2) dont le dernier a eu lieu en 2003; Cette modalité est définie par le code IB-4yrs dans le chapitre 3.
5 - Modalité **FB-2003** regroupant 5 parcelles indépendantes ayant subi de nombreux feux (3 ou 4) dont le dernier a eu lieu en 2003 ; Cette modalité est définie par le code FB-4yrs dans le chapitre 3.
6 - Modalité **FB-2007** regroupant 3 parcelles indépendantes ayant subi de nombreux feux (4) dont le dernier a eu lieu en 2007.

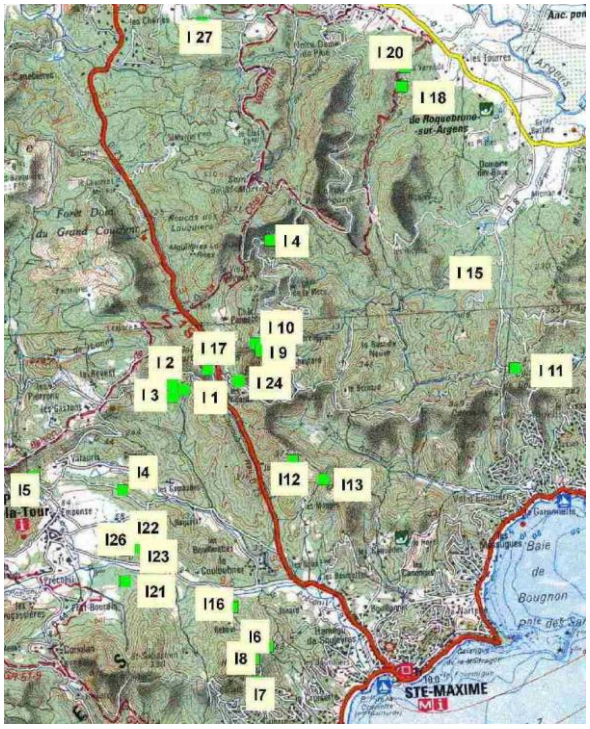


Figure 2.2 : Localisation des parcelles d'étude dans le massif des Maures (Vennetier *et al.*, 2008).

Tableau 2.1 : Histoire d'incendies et caractéristiques générales des parcelles étudiées

	N° des parcelles	Histoire d'incendie (dates des feux)	Code des modalités qualitatives	Structure de la végétation	Espèces végétales dominantes	Types de sol (WRB)
1	1	Non brûlée depuis 1950	NB-1950	Forêt mixtes de chênes lièges, chênes verts et chênes blancs, présence de pins maritimes	*Quercus suber, Q. ilex, Q. pubescens*	Dystric cambisol
	2	Non brûlée depuis 1950				
	3	Non brûlée depuis 1950				
	4	Non brûlée depuis 1950				
	5	Non brûlée depuis 1950				
2	6	1982	IB-1990	Chênaie liège sur maquis haut	*Q. suber, Erica arborea, Arbutus unedo, Cistus monspeliensis, Calycotome spinosa*	Dystric leptosol
	7	1990				
	8	1982/ 1959				
	9	1990/ 1962				
	10	1990/ 1964				
3	11	1990/ 1985/ 1978/ 1964	FB-1990	Chênaie liège sur maquis haut	*Q. suber, Laburnum vulgare, A. unedo, E. arborea, C. spinosa*	Dystric leptosol
	12	1990/ 1985/ 1978/ 1964				
	13	1990/ 1982/ 1978/ 1962				
	14	1990/ 1982/ 1978/ 1962				
4	15	2003/ 1962	IB-2003	Maquis bas et chênes lièges épars	*C. monspeliensis, C. spinosa, C. salviifolius, E. arborea, C. albidus, Q. suber*	Dystric leptosol
	16	2003/ 1962				
	17	2003/ 1982				
	18	2003/ 1982				
	19	2003/ 1982				
5	20	2003/ 1990/ 1970	FB-2003	Maquis bas et chênes liège épars	*C. salviifolius, C. monspeliensis, C. spinosa, Q. Suber*	Dystric leptosol
	21	2003/ 1990/ 1970				
	22	2003/ 1990/ 1982/ 1959				
	23	2003/ 1990/ 1982/ 1959				
	24	2003/ 1990/ 1982/ 1959				
6	25	2007/ 1985/ 1970/ 1964	FB-2007	Chênes liège en partie carbonisés et rejets sur sol tapissé d'herbacées	*Q. suber, C. monspeliensis, Bituminnella bituminosa, Lotus sp.*	Dystric leptosol
	26	2007/ 1985/ 1970/ 1964				
	27	2007/ 1985/ 1978/ 1964				

La connaissance des dates de feux nous permettent également d'étudier les effets 1) du nombre de feux, 2) du temps écoulé depuis le dernier feu et 3) de l'intervalle de temps moyen entre les feux. Ces deux derniers paramètres changent en fonction des années de prélèvements effectués au cours de la thèse (i.e. 2007, 2008 et 2009). D'autre part, nous avons développé un indice d'histoire d'incendie (nommé WHI pour 'wildfire history index') permettant de synthétiser l'ensemble de ces paramètres d'incendie en une valeur unique. L'indice a été paramétré i) pour augmenter avec le nombre de feux, ii) augmenter lorsque le temps depuis le dernier feu diminue, et plus généralement iii) pour donner plus de poids aux feux récents qu'aux feux anciens. Cet indice a pour formule :

$$\mathrm{WHI} = \sqrt{\sum_{i=1}^{n} \frac{1}{Ym - Yi}}$$

où n est le nombre de feux, Ym est l'année d'échantillonnage et Yi est l'année du i^{ème} feu. La racine carrée de cette somme a été appliquée pour réduire la variabilité des valeurs lorsque les feux sont récents. Il a été calculé pour toutes les parcelles et pour chaque année de prélèvements. Le chapitre 4 de ce manuscrit est consacré à la validation puis à l'utilisation du WHI.

Caractéristiques générales des placettes : Pour limiter l'influence d'autres paramètres que le régime de feux sur la variabilité entre les sites, les parcelles sélectionnées présentent des caractéristiques très homogènes sur le plan des facteurs de l'environnement :

- Une zone d'étude réduite et une gamme d'altitudes peu étendue (100–450m) pour bénéficier de conditions climatiques homogènes ;
- Un seul type de roche-mère (gneiss) ;
- Des sites exposés très majoritairement à l'Est ou à l'Ouest (bilan radiatif neutre) ;
- Des situations de pentes moyennes représentatives de ce type de relief (15-20%), seules deux placettes « témoins » (faible perturbation par les incendies) étant en terrain plat ou peu pentu, en raison du choix limité pour cette modalité.

La structure de la végétation, les espèces végétales dominantes et le type de sol sont des paramètres dépendants du régime d'incendie et n'ont donc pas été retenus comme des critères

d'homogénéisation des parcelles. Ces caractéristiques générales sont présentées dans le Tableau 2.1.

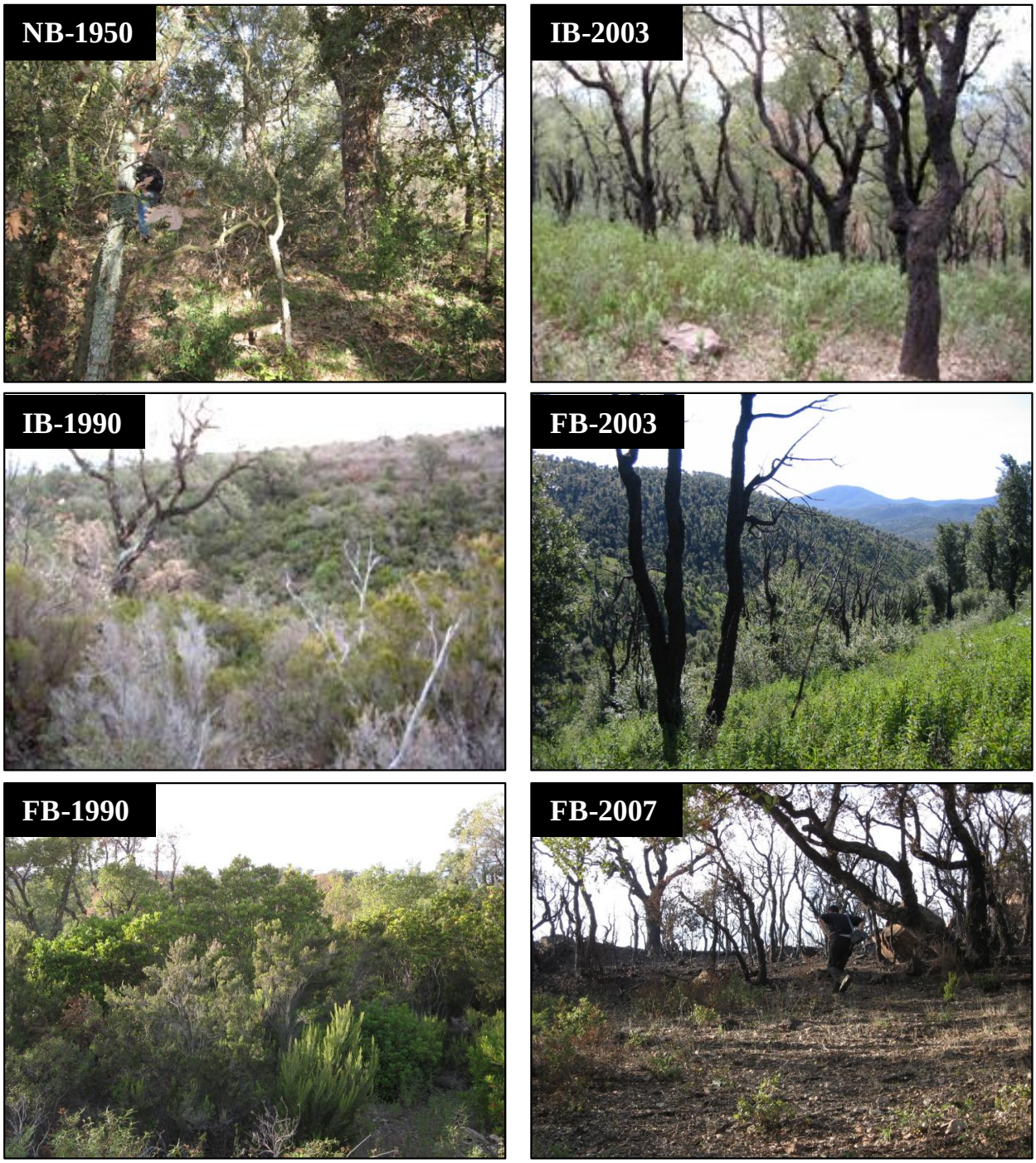


Figure 2.3 : Illustration photographique des parcelles caractéristiques de chaque modalité qualitative de régime d'incendie.

Echantillonnage des sols : Sur chaque parcelle, cinq échantillons de sol ont été prélevés aléatoirement entre 0 et 5 cm de profondeur. Au-delà de cette profondeur les régimes d'incendies étudiés n'ont pas d'effets significatifs sur la qualité des sols (Vennetier *et al.*,

2008). Les 5 échantillons ont ensuite été mélangés pour obtenir un échantillon composite par parcelle. Les échantillons ont alors été tamisés sur le terrain à 2 mm et conservés dans des glacières jusqu'au retour au laboratoire. Une aliquote de l'échantillon composite a été conservée au frais (4°C) dans l'attente des analyses microbiologiques réalisées dans les 10 jours qui ont suivi le prélèvement. La plupart des analyses chimiques a été réalisée sur une autre aliquote séchée à l'air.

2.3. Analyses physico-chimiques des sols

2.3.1. Humidité gravimétrique et teneur en eau à la capacité au champ

La teneur en eau gravimétrique a été obtenue en soustrayant la masse d'un échantillon de sol séché au four (105°C, 24h) à celle de cet échantillon avant séchage. La teneur en eau à la capacité au champ a été obtenue en utilisant le protocole décrit par Saetre (1998). Trente grammes de sol frais ont été pesés dans un cylindre en PVC (5 cm de diamètre, 4 cm de hauteur). De l'eau distillée a ensuite été ajoutée jusqu'à saturation du sol. Le cylindre et son contenu ont été placés à 4°C (12h) pour permettre le drainage de l'eau gravitaire, puis ils ont été pesés. La teneur en eau de cet échantillon saturé, dit à la capacité au champ, a finalement été déterminée par séchage du cylindre au four (105°C, 24h) et soustraction des masses de sol sec et de sol saturé.

2.3.2. Mesure du pH

Le pH a été mesuré sur une suspension de sol dans de l'eau distillée (1:2,5). La mesure a été effectuée après 2h de stabilisation à température ambiante à l'aide d'un pH mètre Métrom (Hérisau, Suisse).

2.3.3. Teneurs en carbone organique total, azote total et matière organique

Les teneurs en carbone organique total (COT) et en azote total (N) ont été déterminées en utilisant un analyseur élémentaire CN FlashEA 1112 (ThermoFisher) (NF ISO 10694, NF ISO 13878). La teneur en matière organique a été mesurée par perte de masse d'un échantillon sec lors d'une calcination à 550°C pendant 16 heures.

2.3.4. Dosages de l'azote ammoniacal et nitrique

L'extraction des formes minérales de l'azote (ammonium et nitrate) a été réalisée selon la méthode de Mulvaney (1996). Brièvement, 5g (équivalent sec) de sol frais ont été mis en suspension dans 50 mL d'une solution molaire de KCl. Après une agitation de 1 heure, la suspension a été filtrée sur papier Whatman n°5. La teneur en ammonium (µg de $N\text{-}NH_4^+.g^{-1}$ de sol sec) contenus dans la solution filtrée a ensuite été dosée par colorimétrie selon la méthode de Mulvaney (1996). L'intensité de la coloration verte émeraude qui se forme après ajout de salicylate est mesurée au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 667nm. La teneur en nitrate (µg de $N\text{-}NO_3^-.g^{-1}$ de sol sec N) contenue dans la solution filtrée a également été dosée par colorimétrie selon le protocole de Keeney et Nelson (1982). L'absorbance de la coloration jaune de l'acide salicylique nitraté est lue au spectrophotomètre à 410 nm.

2.3.5. Dosages du phosphore total, organique et minéral

Le phosphore inorganique (assimilable par les plantes et micro-organismes) a été extrait par les méthodes Dyer (AFNOR X 31-160) et Olsen et Sommer (1982) modifiée par Sparrow *et al.* (1990). Concernant la méthode Dyer, 5 g équivalent sec de sol frais ont été mis en suspension dans 25 mL d'une solution d'acide citrique (2%). Concernant le dosage du phosphore extractible par la méthode Olsen et Sommer (1982), 2 g équivalent sec de sol frais ont été mis en suspension dans 25 mL d'une solution d'acide sulfurique normale. Après une agitation d'1 heure, les extraits sont filtrés sur papier Whatman n°5. La teneur en phosphore sous la forme d'orthorphosphates (µg $P\text{-}PO_4^{3-}.g^{-1}$ de sol sec) dans les extraits filtrés a été dosée par colorimétrie par la méthode du bleu de molybdène (Murphy et Riley, 1962). Concernant le dosage du phosphore total, 2 g équivalent sec de sol frais ont été calcinés durant 16 heures à 540°C. Une extraction des orthophosphates a ensuite été réalisée sur les cendres obtenues par la méthode d'Olsen et Sommer (1982). La quantité de phosphore sous la forme d'orthorphosphates (µg $P\text{-}PO_4^{3-}.g^{-1}$ de sol sec) dans ces extraits a été dosée par colorimétrie par la méthode du bleu de molybdène (Murphy et Riley, 1962). Le phosphore organique a été déterminé en soustrayant les quantités de phosphore inorganique à celles du phosphore total obtenues par la méthode d'Olsen et Sommer (1982).

2.3.6. Analyse spectrométrique des sols par Résonance Magnétique Nucléaire solide du ^{13}C

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) est basée sur la mesure de l'absorption d'ondes électromagnétiques par le noyau des atomes dans le domaine des fréquences radio (de 4 à 1000 MHz). Le noyau d'un atome est limité dans sa rotation (spin) et adopte des niveaux d'énergie déterminés de la même manière que pour les électrons. L'effet d'un champ magnétique sur le « spin » d'un atome va également dépendre de ce nuage électronique qui blinde ou déblinde le noyau en fonction qu'il le protège ou non. Par exemple, un atome de carbone lié à un atome d'oxygène sera déblindé à cause de l'atome d'oxygène électronégatif qui attire les électrons vers son noyau et donc les éloignent du carbone. Inversement un carbone saturé par des atomes d'hydrogène sera beaucoup plus blindé et donc présentera un déplacement chimique inférieur. Le déplacement chimique en RMN est donné en parties par millions (ppm). La RMN du ^{13}C détecte les carbones des groupes fonctionnels les plus importants d'un échantillon et permet une estimation directe de la composition chimique de la matière organique des sols (Haw et Maciel, 1984 ; Kögel-Knabner, 2002).

Les sols du massif des Maures sont caractérisés par de fortes concentrations d'éléments paramagnétiques, tels que les oxydes métalliques, qui interfèrent avec l'acquisition RMN et provoquent l'absence de signal (Figure 2.4a). Par conséquent, l'obtention d'un signal interprétable (Figure 2.4b) a nécessité le prétraitement des échantillons selon le protocole de Gélinas *et al.* (2001) modifié. Brièvement, 2 g de sol sec ont été pesés dans un tube Falcon en polystyrène puis agités avec 30 mL d'acide chlorhydrique (N) pendant 1h. Une centrifugation de la suspension (1000 ×g ; 15 min) puis le rinçage du culot avec 10 mL d'eau distillée ont été effectués trois fois successivement. Le culot a ensuite été traité 2 fois successives en l'agitant pendant 12h dans 20 mL d'un mélange d'acide chlrorhydrique (N) et d'acide fluorhydrique 10% (v:v). Entre chaque traitement, la suspension est centrifugée (15 min à 1000 ×g) et le surnageant est éliminé. Trois rinçages successifs de l'échantillon ont finalement été effectués avec de l'eau distillée après centrifugations (1000 ×g ; 15 min).

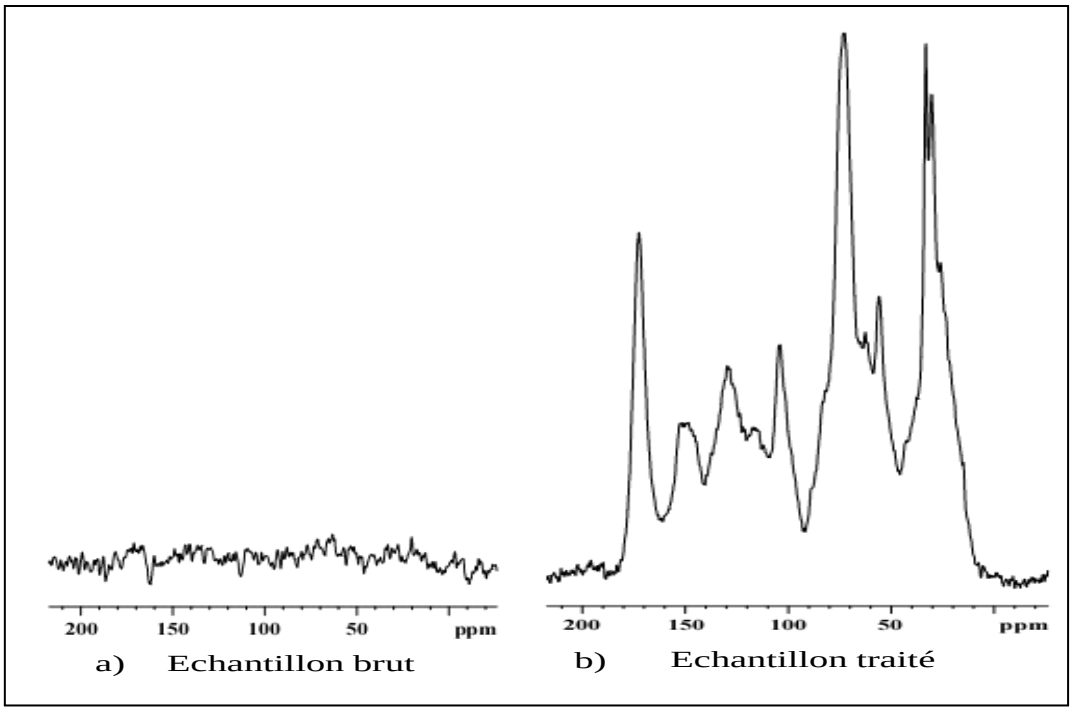


Figure 2.4 : Spectres RMN ^{13}C d'un échantillon de sol brut (a) et d'un échantillon de sol traité aux acides fluorhydrique et chlorhydrique (b)

Les spectres CPMAS (Cross Polarisation Magic Angle Spinning) RMN ^{13}C ont été enregistrés avec un spectromètre RMN Bruker Avance-400 MHz du Spectropole (Université Paul Cézanne) opérant à une fréquence de résonance de 106 MHz et en utilisant une sonde Bruker à double roulement. Cent milligrammes d'échantillon de sol traités aux acides ont été placés dans un rotor en dioxyde de zirconium de 4 mm de diamètre extérieur tournant à une vitesse de rotation de 10 kHz et inclinée à l'angle magique (i.e. angle de 54,7° par rapport au champ magnétique statique). La technique de polarisation croisée (i.e. Cross Polarisation ou CP) (Schaefer and Stejskal, 1976) a été appliquée avec une rampe de vibration ^{1}H commençant à 100% de puissance et diminuant jusqu'à 50% avec un temps de contact de 2 ms pour éviter les inadéquations de Hartmann-Hahn (Peersen *et al.*, 1993; Cook *et al.*, 1996). Pour améliorer la résolution, un découplage dipolaire GT8 de la séquence de vibration (Gerbaud *et al.*, 2003) a été appliqué pendant le temps d'acquisition. Les mesures ont été réalisées à température ambiante et 20 000 spectres ont été acquis et co-additionnés avec un délai de 2,5s pour un temps de mesure total de 14 heures. Les mesures de déplacements chimiques du ^{13}C ont été calibrées avec 2 références : Le tetramethylsilane ($Si(CH_3)_4$) pour le début du spectre et la glycine carbonylée comme signal de référence à 176,5 ppm. Une déconvolution pour chaque spectre a été réalisée sur le logiciel DmFit 2005 pour déterminer les intensités relatives des régions ou des pics d'intérêt (Massiot *et al.*, 2002).

Les spectres ont été subdivisés en 7 régions en accord avec Mathers *et al.* (2003). La Figure 2.5 présente un exemple de spectre CPMAS RMN ^{13}C d'un sol du massif des Maures avec ses différentes régions.

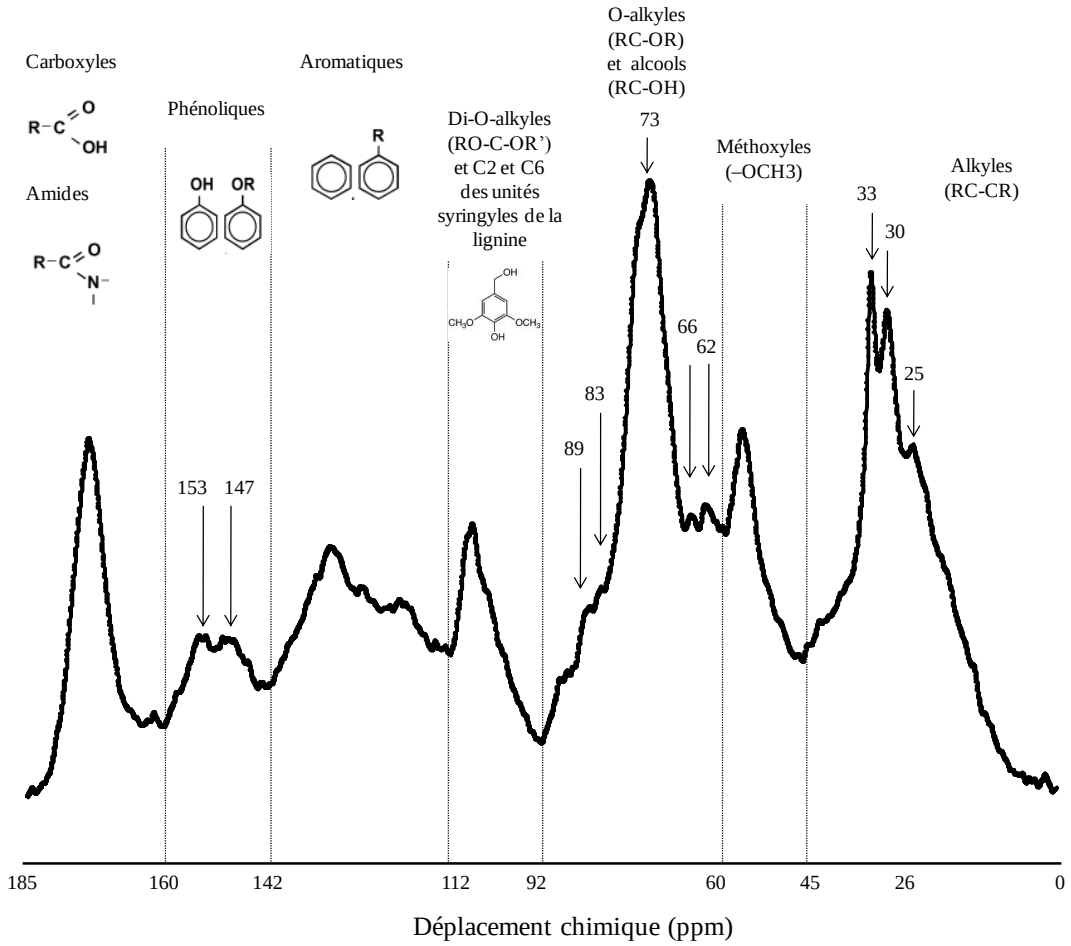


Figure 2.5: Spectre CPMAS RMN du ^{13}C d'un sol du massif des Maures. Le spectre est subdivisé en 7 régions correspondantes à des structures carbonées spécifiques.

Certaines régions ont nécessité d'être subdivisées en pics spécifiques. La région des C-alkyles (0-45 ppm) a été subdivisée d'une part en groupements méthyl des chaines méthylènes relativement courtes (pic culminant à 25 ppm) et d'autre part en carbones composant les longues chaines de polyméthylène (somme de deux pics à 30 et 33 ppm). Dans la région *O*-alkyle, les pics (ou épaulements) à 62 et 83 ppm peuvent être attribués aux atomes C-6 and C-4 de la cellulose amorphe et les pics à 66 et 89 ppm aux atomes C-6 and C-4 de la cellulose cristalline, et le pic le plus important de cette région à 73 ppm assigné à de nombreux composés tels que la cellulose (C-3 and C-5 des hexoses), les hémicelluloses (C3 and C5 des hexoses et C-2 et C-3 des pentoses) et la lignine (Cα, Cβ and Cγ) (Preston *et al.*, 1997; Kögel-knabner, 2002). La région des C-phénoliques (142-160 ppm) a été subdivisée en 2 pics : un

pic à 147 ppm pouvant être attribué aux C-3 et C-4 des unités guaiacyles de la lignine et un pic à 153 ppm attribué aux C-3 et C-5 des unités syringyles (Knicker *et al.*, 2005).

2.3.7. Analyse spectrométrique des sols dans le proche infrarouge

La spectroscopie du proche infrarouge (SPIR) est une technique analytique non destructive basée sur l'interaction entre un rayonnement lumineux dans le domaine proche infrarouge (10 000-4000 cm^{-1} ou 800-2500 nm) et les molécules de l'échantillon. Les liaisons C–H, N–H, O–H, S–H, C=O et O–H, constitutives de la plupart des molécules biologiques (Bellon-Maurel *et al.*, 2003), présentent une forte polarisation et un grand déséquilibre massique et sont donc les plus susceptibles d'être mises en vibration. La SPIR mesure ainsi des intensités d'absorption de radiations électromagnétiques par la matière organique des sols. Cependant, dans la zone du proche infrarouge, les absorptions ne sont pas dues aux vibrations fondamentales des molécules, mais aux vibrations harmoniques et aux vibrations de combinaisons. Ainsi, et parce que les bandes d'absorption des diverses liaisons chimiques d'un sol peuvent se chevaucher, le spectre d'absorption recueilli est complexe et son interprétation très difficile. C'est pourquoi des méthodes statistiques multivariées (ACP, AFC…) et chimiométriques (RMCP) sont appliquées afin d'interpréter les spectres et doser, par des méthodes de calibration, les composés, molécules ou matériaux contenus dans les sols. La SPIR apparaît comme un outil précieux pour prédire les teneurs en C et N des sols (Cozzolino et Moron, 2006 ; Brunet *et al.*, 2007) et estimer les processus de décomposition de la matière organique dans les sols et les litières (Joffre *et al.*, 1992 ; Gillon *et al.*, 1993 ; Coûteaux *et al.*, 2005). Elle est également de plus en plus appliquée pour la prédiction des activités microbiennes du sol (Cécillon *et al.*, 2008).

L'acquisition des spectres des échantillons de sol séchés à l'air et tamisés a été réalisée à l'Institut des Sciences Moléculaires de Marseille avec un spectromètre Nicolet Antaris muni d'une sphère d'intégration. Les données enregistrées en réflectance (R) sont automatiquement converties en absorbance (A) par la relation A = log (1/R). Les spectres ont été acquis avec le logiciel Omnic 2.1 entre 4500 et 10 000 cm^{-1} et une résolution nominale de 4 cm^{-1}. Chaque spectre est obtenu en accumulant 100 interférogrammes.

La capacité prédictive des activités microbiennes et des paramètres d'incendie par la SPIR a été analysée par régression des moindres carrés partiels (RMCP) (Tenenhaus, 1998). La RMCP consiste à ajuster un modèle statistique linéaire reliant une matrice de variables explicatives X (les descripteurs, ici la matrice des valeurs d'absorbance PIR) à une matrice de variables réponses Y (i.e. propriétés du sol mesurées par des méthodes conventionnelles de référence). Durant le processus de modélisation, la RMCP résume les descripteurs (matrice X) en une série de composantes t_h (aussi appelées facteurs) deux à deux orthogonaux. A la différence de l'analyse en composantes principales et des autres méthodes de régression linéaire multivariée, ces composantes sont construites de manière à expliquer au mieux la matrice Y, et l'information contenue dans cette matrice réponse est prise en compte pour le calcul des B-coefficients (matrice B). De la même manière, les variables réponses sont résumées dans une série de composantes u_h (scores Y, pas de contrainte d'orthogonalité). Les séries de facteurs (u_h, t_h) sont construites par la RMCP de manière à ce que leur covariance soit maximale. Le nombre de composantes ne peut pas excéder le nombre de variables explicatives. La procédure RMCP étant une modélisation empirique, il est essentiel de déterminer un nombre optimal de composantes (h) garantissant une complexité correcte tout en évitant un sur-ajustement du modèle et donc une puissance prédictive très faible ou nulle (Roger, 2005). Par ailleurs, les modèles de régression étant construits dans un but prédictif, il est important de pouvoir tester de manière fiable leur robustesse. Différentes méthodes permettent d'évaluer la robustesse et donc de valider les modèles en précisant leur puissance prédictive. Certaines méthodes utilisent le jeu de données initial pour réaliser une validation croisée du modèle (cas de jeux de données avec peu d'individus), d'autres valident le modèle sur un jeu de données spécialement acquises pour une validation indépendante (cas de jeux de données avec de nombreux individus).

Dans cette thèse, les échantillons ont été subdivisés en deux jeux distincts : le premier, composé des ¾ des échantillons (choisis aléatoirement), sert à la construction d'un modèle de calibration tandis que le deuxième, constitué du quart des échantillons restant, sert à la validation du modèle de calibration par prédiction. Le nombre de composantes sélectionnées a été déterminé par l'examen de la courbe PRESS (Predicted Residual Error Sum of Squares). La valeur PRESS est un indicateur de l'erreur de prédiction dans une RMCP. Chaque fois que l'on rajoute une composante représentant une information utile au modèle d'étalonnage multivarié, les valeurs de l'erreur du modèle et du PRESS sont réduites. La valeur du PRESS atteint un minimum pour un nombre donné de composantes. Ce nombre est alors utilisé pour

la construction du modèle définitif. Le R^2 du modèle de calibration et l'erreur standard de calibration (ESC) ont été calculés et testés par validation croisée complète (« full cross validation »). Le modèle de calibration a par ailleurs été construit en sélectionnant les longueurs d'onde les plus appropriées obtenues par la méthode de projection des variables importantes (Cécillon *et al.*, 2008). L'évaluation de la performance de la prédiction a été estimée par la valeur du R^2 du modèle de prédiction, l'erreur standard de prédiction (ESP) et l'écart prédictif des résidus (RPD pour 'residual predictive deviation'). Le RPD est le *ratio* de l'écart type des données mesurées sur l'erreur type de la prédiction. L'ESC et l'ESP ont été analysées au regard de l'erreur standard de la mesure (ESM). Pour améliorer les modèles, des pré-traitements mathématiques tels que la ''multiplicative scatter correction'' (MSC), la ''standard normal variate'' (SNV) ou la dérivée première, ont été appliqués aux spectres. Chaque modèle RMCP a été construit avec le logiciel Unscrumbler 9.2 (Camo Process AS, Norvège) afin de réduire au minimum l'ESC et de maximiser le R^2 de la calibration et le RPD.

2.3.8. Analyse spectrométrique des sols dans le moyen infrarouge

La spectroscopie du moyen infrarouge (SMIR) est une technique analytique également basée sur le principe d'absorption de rayonnements infrarouges par la matière entre 450 et 4000 cm^{-1}. Les liaisons qui absorbent à ces longueurs d'onde sont des liaisons chimiques fondamentales (Smith, 1999) et correspondent à des fonctions chimiques spécifiques de la matière organique des sols. Dans le MIR, tout composé organique possède une signature qui lui est propre. C'est pourquoi cette technique est utilisée pour caractériser la matière organique d'un sol (Tinoco *et al.*, 2006). L'étude des spectres permet de tirer deux types d'informations :

- *Informations qualitatives* : les liaisons chimiques absorbent à une longueur d'onde caractéristique. Des tables IR permettent d'attribuer les absorptions aux différents groupes chimiques en présence et donc d'identifier la ou les molécules présentes.

- *Informations quantitatives* : l'intensité de la bande d'absorption rend compte de la concentration du groupe chimique caractéristique de cette absorption (loi de Beer-Lambert).

Les spectres infrarouges « à transformée de Fourier » (IRTF) ont été réalisés sur les sols traités par les acides (§ 2.3.6.) au moyen d'un spectromètre Thermo Nicolet Avatar 370 équipé d'un détecteur DTGS, d'une source Ever-Glo et d'un séparateur de faisceaux Kbr/germanium. 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 : 4000-700 cm^{-1}. Cinq spectres ont ainsi été enregistrés par échantillon. Le spectre de l'air a été pris comme référence avant chaque échantillon. Entre chaque spectre, la cellule ATR était nettoyée avec de l'éthanol permettant un séchage très rapide de la cellule ATR. Pour vérifier que la cellule était propre, un spectre était enregistré et comparé au premier.

Les spectres obtenus sont corrigés (correction ATR du logiciel OmnicTM) pour tenir compte de la variation de profondeur de pénétration dans l'échantillon du faisceau infrarouge incident. Des techniques de déconvolution spectrale ont été utilisées pour améliorer la résolution de certaines régions spectrales (« self-Fourier déconvolution » du logiciel OmnicTM).

La région du spectre MIR où le diamant interfère (2200-1900 cm^{-1}) a été exclue des intégrations (Artz *et al.*, 2008). Les groupes fonctionnels de la matière organique du sol ont été définies en accord avec Haberhaueur *et al.* (1998), Nardi *et al.* (2005) and Tinoco *et al.* (2006) et les pics d'absorption ont été intégrés avec le logiciel Thermo Omnic 7.1 (Thermo Electron. Corp., Waltham, MA, USA). Dix pics ont été enregistrés à 2920, 2850, 1690, 1633, 1556, 1538, 1521, 1453, 1420 et 1373 cm^{-1} (Figure 2.6). Les pics à 2920 et 2850 cm^{-1} correspondent respectivement aux vibrations des liaisons C–H asymétriques et symétriques des groupes fonctionnels $-CH_2$ des structures aliphatiques (e.g. cires, les graisses et les lipides). Le pic à 1690 cm^{-1} est en fait un épaulement qui correspond aux vibrations des liaisons carboxylates C=O. Le large pic à 1633 cm^{-1} peut être attribué à la fois aux vibrations des carboxylates (C=O) et des double liaisons entre carbone (C=C) de molécules aromatiques. Les pics à 1556 et 1538 cm^{-1} peuvent à la fois être attribués aux vibrations des liaisons N–H (amide II) et C=C des molécules aromatiques quant au pic à 1521 cm^{-1} seulement aux vibrations des liaisons N–H. Les pics enregistrés à 1453 et 1371 cm^{-1} correspondent aux vibrations des liaisons N–H (amide II) et à la déformation des liaisons C–H des structures aliphatiques. Enfin le pic à 1420 cm^{-1} est dû à l'élongation des liaisons symétriques C–O des structures carboxyliques et carboxylates. Certains pics dont le signal consiste en la

superposition de composés organiques et minéraux ont été supprimés des analyses (i.e. les pics à 3690, 3620, 1161, 1010, 825 et 740 cm^{-1}) (Haberhauer *et al.*, 1998; Rumpel *et al.*, 2006a). La large bande correspondante aux liaisons O–H entre 3600–3000 cm^{-1} n'a pas été intégrée à cause de l'influence de l'eau qui peut être très forte dans cette région du spectre malgré une dessiccation des sols par lyophilisation mais également parce qu'elle donne peu d'informations sur la composition de la matière organique (Kaiser et Ellerbrock, 2005). Les changements relatifs des groupes fonctionnels de la matière organique ont été déterminés par le calcul des absorbances relatives (Ar) de chaque pic en divisant la hauteur d'un pic par la somme des hauteurs de tous les pics (e.g. $Ar_{2920} = A_{2920} / \Sigma A_{(2920\text{-}1373\ cm\text{-}1)} \times 100$).

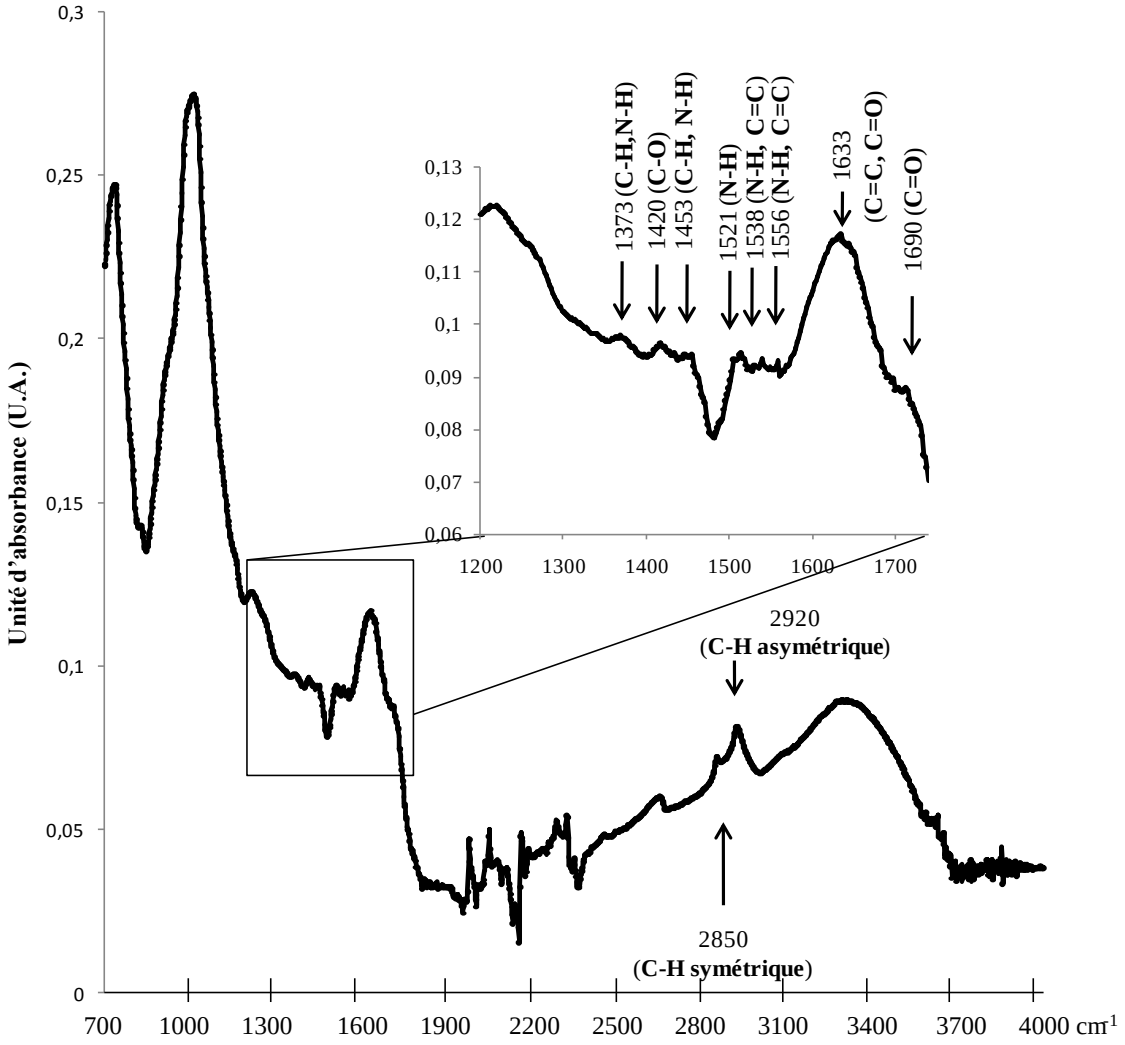


Figure 2.6 : Exemple d'un spectre MIR et attribution des principaux pics

2.4. Analyses microbiologiques

2.4.1. Respiration basale et biomasse microbienne

La respiration basale (mg de C-CO_2/g de sol sec) a été mesurée selon le protocole décrit par Anderson et Domsch (1978), pour évaluer l'état physiologique des communautés microbiennes des sols. Dix grammes (équivalent sec) de sol frais conservé à 4°C ont été pesés dans un flacon en verre (117 mL). Les flacons ont été fermés avec un bouchon hermétique immédiatement après le remplacement (4 minutes) de leur atmosphère interne par une atmosphère contrôlée, puis incubés 4 heures à 25°C. Après incubation, une aliquote d'atmosphère du flacon (1 mL) a été injecté à l'aide d'une seringue dans un chromatographe en phase gazeuse (Chrompack CHROM 3 – CP 9001). Le chromatographe était équipé d'un détecteur TCD et d'une colonne remplie (Porapack) dans laquelle circule de l'hélium à un flux de 60 $mL.h^{-1}$. Les valeurs obtenues ont été ajustées à 22°C en accord avec la loi des gaz parfaits à Q_{10}=2. Les concentrations ambiantes en CO_2 ont été soustraites aux concentrations en CO_2 mesurées après incubation pour obtenir la quantité de CO_2 produite par les micro-organismes hétérotrophes contenus dans l'échantillon.

La biomasse microbienne a été estimée par la méthode de respiration induite par ajout de glucose (Anderson and Domsch, 1978). Les échantillons précédents ont été réutilisés le lendemain pour la mesure de respiration induite. Un mélange de talc et de glucose (1000 µg C g^{-1} sol) a été ajouté aux dix grammes (équivalent sec) de sol. Une incubation de 100 minutes a été réalisée pour atteindre un taux maximal de respiration induite. Les flacons ont été fermés avec un bouchon hermétique immédiatement après le remplacement (4 minutes) de leur atmosphère interne par une atmosphère contrôlée, puis incubés 90 minutes à 22°C. La concentration en CO_2 des flacons a été analysée en chromatographie phase gazeuse et corrigée de la même manière que décrite précédemment pour la respiration basale. Les taux de respiration induite ont été convertis en valeur de biomasse microbienne en utilisant l'équation donnée par Beare *et al.* (1990). Le quotient métabolique (qCO_2) pour chaque échantillon a été calculé par le rapport respiration basale / biomasse microbienne donnant ainsi la quantité de carbone libérée par unité de biomasse et donc une estimation de l'efficacité métabolique de la communauté.

2.4.2. Profils cataboliques des communautés microbiennes cultivables

La structure et la diversité des fonctions cataboliques des communautés microbiennes cultivables ont été déterminées par la méthode Biolog® Ecoplates (BIOLOG Inc., Hayward, CA). La méthode consiste à mesurer la croissance des micro-organismes et le métabolisme résultant de l'utilisation d'une grande variété de substrats carbonés. Les microplaques BIOLOG® ECO sont subdivisées en 3 zones identiques comprenant chacune 31 sources de carbone et 1 puits contrôle sans substrats. L'oxydation des substrats engendre la réduction proportionnelle du bleu de nitro-tetrazolium incolore en formazan pourpre. De véritables empreintes métaboliques, sortes de cartes d'identité des fonctions cataboliques des communautés, peuvent alors être établies et comparées. Les sources de carbone (Figure 2.7) peuvent être regroupées en 6 classes chimiques : les acides carboxyliques, les amides et amines, les polymères, les carbohydrates, les acides aminés et les composés divers.

A1 Water	A2 β-Methyl-D-Glucoside	A3 D-Galactonic Acid γ-Lactone	A4 L-Arginine
B1 Pyruvic Acid Methyl Ester	B2 D-Xylose	B3 D-Galacturonic Acid	B4 L-Asparagine
C1 Tween 40	C2 i-Erythritol	C3 2-Hydroxy Benzoic Acid	C4 L-Phenylalanine
D1 Tween 80	D2 D-Mannitol	D3 4-Hydroxy Benzoic Acid	D4 L-Serine
E1 α-Cyclodextrin	E2 N-Acetyl-D-Glucosamine	E3 γ-Hydroxybutyric Acid	E4 L-Threonine
F1 Glycogen	F2 D-Glucosaminic Acid	F3 Itaconic Acid	F4 Glycyl-L-Glutamic Acid
G1 D-Cellobiose	G2 Glucose-1-Phosphate	G3 α-Ketobutyric Acid	G4 Phenylethyl-amine
H1 α-D-Lactose	H2 D,L-α-Glycerol Phosphate	H3 D-Malic Acid	H4 Putrescine

Figure 2.7 : Substrats carbonés disponibles dans une plaque BIOLOG® ECO et leur code pour une lecture simplifiée des résultats

Les profils cataboliques ont été mesurés selon le protocole modifié de Garland et Mills (1991). Brièvement, 5 grammes (équivalent sec) de sol frais ont été mis en suspension dans 50 mL d'une solution stérile de pyrophosphate de sodium à 0,1% (pH 7) puis agités pendant 20 minutes sur un agitateur orbital. La suspension a ensuite centrifugé (500 *g* ; 10 min ; 4 °C) puis dilué 100 fois dans une solution saline stérile (0.85% NaCl). Les puits ont été inoculés avec 125 µL de cette suspension et les microplaques Biolog ont été incubées à 25°C pendant 5 jours. Le développement de densité optique de chaque puits a été enregistré 3 fois par jour à une longueur d'onde de 595 nm (spectrophotomètre Elisa 960 Metertech®) jusqu'à la fin du développement de la densité otique moyenne des 31 puits. Pour chaque échantillon et chaque temps de mesure, l'absorbance du puits contrôle a été soustraite de celle des autres puits de la microplaque pour éliminer l'absorbance de la suspension de sol (particules et bactéries). Le temps d'incubation pour lequel la densité optique moyenne de l'ensemble des substrats atteignait une valeur de 0,5 ($AWCD_{0,5}$ ou Average Well Colour Development) a été calculé selon la méthode de Garland et Mills (1991) pour chaque échantillon. Ce temps a été utilisé pour déterminer par extrapolation la densité optique de chaque substrat. Un tableau contenant pour chaque échantillon, une valeur d'absorbance standardisée pour les 31 substrats est analysé par des tests statistiques multivariés ou des calculs d'indice de diversité.

2.4.3. Activités enzymatiques

2.4.3.1. Mesure de l'activité des hydrolases du diacétate de fluorescéine (FDAse)

L'activité FDAse a été mesurée selon la méthode modifiée de Green *et al.* (2006). Quatre mL de tampon phosphate de potassium à 60 mM (pH 7,6) plus 50 µL de solution FDA (2mg/mL d'acétone) ont été ajoutés à 0,5 g de sol frais et incubés à 30 °C pendant 1 heure. La réaction a été arrêtée en ajoutant 2 mL d'acétone et le mélange a été immédiatement centrifugé pendant 2 min à 12 000 *g* (4°C). La fluorescéine libérée à partir de la FDA a été mesurée dans le surnageant à 490 nm. L'activité FDAse est exprimée en µmole de fluorescéine libérée par minute (U) et par gramme de sol sec ($U.g^{-1}$).

2.4.3.2. Mesure de l'activité des β-glucosidases (β-Glu)

L'activité β-Glu a été mesurée selon la méthode d'Eivazi et Tabatabai (1988). Dans un tube à essais, 0,5 g de sol frais sont pesés puis mélangés avec 4 mL d'une solution de *p*-

nitrophényl β-D-glucopyranoside (*p*NPG) (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 $CaCl_2$ (0,5 M) et de 4 mL de NaOH (0,5 M). La suspension a été immédiatement mélangée puis centrifugée (2 min, 12 000 g). La quantité de *p*-nitrophenol (*p*NP) libérée à partir du *p*-NPG a été mesurée sur le surnageant à 412 nm. Pour chaque échantillon, un témoin est réalisé dans des conditions identiques en remplaçant la solution *p*NPG par 4 mL de tampon acétate seul. L'activité β-Glu est exprimée en µmole de *p*-NP libéré par minute (U) et par gramme de sol sec ($U.g^{-1}$).

2.4.3.3. Mesure de l'activité des phosphomonoestérases acides (Pma) et alcalines (Pmb)

Les activités Pma et Pmb ont été mesurées selon la méthode de Tabatabai et Bremner (1969). Le milieu réactionnel est constitué de 0,5g de sol frais, de 4 mL de tampon acétate de sodium pour la Pma (0,1 M, pH 5,0) ou 4 mL de tampon NaOH-glycine pour la Pmb (0,1 M, pH 9,0) et de 1 mL de *p*-nitrophenyl phosphate (*p*NPP, 5 mM). Après une incubation de 1 h à 30 °C, la réaction a été arrêtée par l'ajout de 1 mL de $CaCl_2$ (0,5 M) et 4 mL de NaOH (0,5 M). Après une centrifugation de 2 min à 12 000 g, la quantité de *p*-nitrophenol (*p*NP) libérée à partir du *p*-NPP a été mesurée sur le surnageant à 412 nm. Pour chaque échantillon, un témoin est réalisé dans des conditions identiques en remplaçant la solution *p*NPP par 4 mL de tampon acétate seul. Les activités Pma et Pmb sont exprimées en µmole de *p*-NP libéré par minute (U) et par gramme de sol sec ($U.g^{-1}$).

2.4.3.4. Mesure de l'activité des uréases (Ur)

L'activité Ur a été évaluée selon la méthode adaptée de Tabatabai et Bremmer (1972). Dans un tube à essai, 1 g de sol frais a été pesé puis mélangé avec 6 mL de tampon acétate de sodium (50 mM, pH 6) contenant 20 mM d'urée. Le milieu réactionnel a été incubé pendant 2 heures (37°C) puis centrifugé (2 mn, 4°C, 12000 g). La teneur en azote sous la forme d'ammonium ($N\text{-}NH_4^+$) libéré par les uréases a été quantifiée par la méthode de (Mulvaney, 1996). 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. L'activité Ur est exprimée en µmole de $N\text{-}NH_4^+$ libéré par minute (U) et par gramme de sol sec ($U.g^{-1}$).

2.4.3.5. Mesure de l'activité des phénol-oxydases (PO)

L'activité PO de type tyrosinases (EC 1.14.18.1) a été mesurée en utilisant le protocole de Saiya-Cork *et al.* (2002). Brièvement, le milieu réactionnel est constitué de 0,5 g de sol frais et de 6 mL d'une solution de L-Dopa (3,4 dihydroxyphénylalanine, ε^{M}= 620 $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) à 25mM dans un tampon acétate (pH 6,5, 50 mM). Après 15 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, les tubes ont été centrifugés pendant 3 minutes à 12 000 g (4°C). La densité optique du surnageant a été déterminé 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. L'activité PO est exprimée en U g^{-1} de sol sec (1U = 1µmole de Dopachrome min^{-1}).

2.4.3.6. Mesure de l'activité des cellulases (Cel)

L'activité Cel a été mesurée selon la méthode de Deng et Tabatabaï (1994). Le milieu réactionnel contenant 5 g de sol frais, 20 mL de tampon acétate de sodium (50 mM ; pH 5,5) et 2% de carboxyméthylcellulose (CMC) a été incubé pendant 4 heures à 50%. L'hydrolyse de la CMC libère des sucres réducteurs qui ont été dosés par la méthode de Somogyi-Nelson (Somogyi, 1945 ; Nelson, 1944). Après centrifugation, 2 minutes à 12 000 g et à 4°C, 1 mL du milieu réactionnel a été porté à ébullition dans un bain marie à 100°C en présence de 1mL de réactif de Somogyi. Après refroidissement, 1 mL de réactif de Nelson et 2 mL d'eau distillée ont été ajoutés au mélange. Après centrifugation 2 minutes à 12 000 g et à 4°C, la densité optique est mesurée à 520 nm. L'activité Cel est exprimée en µmole de glucose libéré par minute (U) et par gramme de sol sec ($U.g^{-1}$).

2.4.4. Ammonification et nitrification nette, minéralisation nette de l'azote

Les flux d'ions ammonium et nitrate produits respectivement par l'ammonification et la nitrification ont été quantifiés selon la méthode d'incubation aérobie (Hart et Stark, 1997). Brièvement, 2 sous-échantillons de 10 g (équivalent poids sec) de sol frais ont été placés dans des flacons en verre. Le premier (t0) a été immédiatement analysé pour déterminer les concentrations en $N\text{-}NH_4^+$ et $N\text{-}NO_3^-$ après leur extraction avec 100 mL de KCl 1M. Les suspensions de sol et de KCl ont été mélangées sur un agitateur orbital puis filtrées sur papier filtre Whatman No. 5. La teneur en ammonium (µg de $N\text{-}NH_4^+.g^{-1}$ de sol sec) de la solution

filtrée a ensuite été dosée par colorimétrie selon la méthode de Mulvaney (1996). 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. Les nitrates (µg de $N\text{-}NO_3^-.g^{-1}$ de sol sec N) contenus dans la solution filtrée ont également été dosés par colorimétrie selon le protocole de Keeney et Nelson (1982). L'absorbance de la coloration jaune de l'acide salicylique nitraté est lue au spectrophotomètre à 410 nm. Le second sous-échantillon (t30) a été incubé pendant 30 jours à 23 °C et les deux formes d'azote inorganique ont été analysées comme décrit ci-dessus. Pendant le temps d'incubation, les flacons ont été périodiquement pesés et la teneur en humidité initiale réajustée avec un brumisateur. L'ammonification nette de l'azote est définie comme étant la différence des concentrations en $N\text{-}NH_4^+$ entre t_{30} et t_0. La nitrification nette est obtenue par différence des concentrations en $N\text{-}NO_3^-$ avant et après incubation (t_{30}-t_0). Les valeurs sont exprimées en µg $N\text{-}NH_4^+$ $j^{-1}g^{-1}$ de sol sec pour l'ammonification et en µg $N\text{-}NO_3^-.j^{-1}.g^{-1}$ de sol sec pour la nitrification. La minéralisation nette de l'azote est obtenue par la différence entre t_{30} et t_0 des concentrations en ions ammonium plus nitrate (µg N inorganique $.j^{-1}.g^{-1}$).

2.4.5. Minéralisation nette du phosphore

La minéralisation nette du phosphore a été mesurée selon la méthode d'incubation décrite par Sparrow *et al.* (1990). Deux sous-échantillons de 10 g (équivalent poids sec) de sol frais ont été placés dans des flacons en verre. Les ions PO_4^{3-} ont été extraits d'une aliquote du premier sous-échantillon par la méthode Olsen et Sommer (1982). Deux g de sol ont été mis en suspension dans 25 mL d'une solution d'acide sulfurique normale. Après une agitation d'1 heure, les extraits sont filtrés sur papier Whatman n°5. La quantité de phosphore sous la forme d'orthorphosphates (µg $P\text{-}PO_4^{3-}.g^{-1}$ de sol sec) dans l'extrait filtré a été dosée par colorimétrie par la méthode du bleu de molybdène (Murphy et Riley, 1962). Le second sous-échantillon a été incubé pendant 30 jours à 23 °C. Les ions PO_4^{3-} ont été extraits puis dosés comme décrit ci-dessus. Pendant le temps d'incubation, les flacons ont été périodiquement pesés et la teneur en humidité initiale réajustée avec un brumisateur. La minéralisation nette du phosphore (µg $P\text{-}PO_4^{3-}.j^{-1}.g^{-1}$ de sol sec) est obtenue par différence des concentrations en $P\text{-}PO_4^{3-}$ avant et après incubation.

2.5. Traitements statistiques

2.5.1. Tests d'hypothèses et de comparaisons de moyennes

Les analyses de variance (ANOVA) à 1, 2 ou 3 facteurs ont été utilisées pour tester les effets des sources de variations étudiées sur les propriétés physico-chimiques et microbiologiques des sols (i.e. chapitres 3, 5 et 6). Le test post-hoc des moindres différences de Fisher (LSD) a été utilisé pour réaliser des comparaisons multiples de moyennes. Lorsque cela était nécessaire, les données ont été transformées (i.e. log10 ou racine carré) pour respecter les conditions de normalité et d'homogénéité de la variance requises pour utiliser ces tests paramétriques. Ces analyses ont été réalisées sur Statistica 6.0.

2.5.2. Analyses en composantes principales (ACP) et tests de comparaison des groupes

Les profils cataboliques et les spectres du moyen infrarouge (chapitre 3 et 6) ont été étudiés par des analyses en composantes principales (ACP) calculées sur des matrices de covariance. L'ACP ordonne les échantillons de sol sur une carte factorielle à 2 dimensions. Ces dimensions, ou composantes principales, sont sélectionnées pour expliquer le maximum de variance. Un cercle des corrélations, correspondant à une projection sur la carte factorielle des variables explicatives (substrats carbonés des profils cataboliques et longueur d'ondes des spectres MIR) sous la forme de vecteurs, permet d'interpréter l'ordination des échantillons. L'analyse de variance multivariée par permutation (PERMANOVA) a été utilisée pour tester les effets des sources de variations étudiées sur les profils cataboliques et les spectres MIR. Dans le cas d'un effet significatif du facteur, les différences entre les groupes sont testées deux à deux par le test de permutation de Monte Carlo (999 permutations). Ces analyses ont été conduites sur le logiciel Primer-e version 6 (Primer-E Ltd, UK) (Anderson *et al.*, 2008).

2.5.3. Analyse de redondance

Les fonctions chimiques de la matière organique potentiellement impliquées dans le retour des profils cataboliques (Chapitre 5) ont été déterminées par une analyse de redondance (RDA). La RDA est une forme contrainte de l'ACP dans laquelle les axes explicatifs sont contraints par des combinaisons linéaires des variables explicatives. Concrètement, cette

ordination contrainte met en relation deux matrices de données : Une matrice dépendante et une matrice explicative. Nous avons utilisé une RDA, car elle ne nécessite pas des conditions de normalité et d'homogénéité de la variance, et peut être utilisée lorsque le nombre de variables dépendantes est supérieur au nombre de sites. La RDA suivie d'un test de permutation de Monte Carlo (5000 permutions aléatoires) ont été utilisés pour tester statistiquement les relations entre les profils cataboliques (i.e. variables dépendantes) et les fonctions chimiques de la matière organique des sols (i.e. variables explicatives). La RDA calcule la part de variance expliquée par chacune des variables environnementales (λ-1) (effets marginaux). Les RDA et les tests de permutation de Monte Carlo ont été réalisés avec CANOCO 4.5 (ter Braak and Smilauer, 2002).

2.5.4. Analyses de Co-inertie

Les relations entre les profils cataboliques et les caractéristiques chimiques des sols (fonctions chimiques de la matière organique par SMIR et nutriments) ont été étudiées par des analyses de co-inertie (CIA) (Chapitre 3). La CIA est une analyse multivariée qui permet de décrire les relations entre 2 matrices de données (Dolédec and Chessel, 1994; Dray *et al.*, 2003). Elle peut être utilisée même si le nombre de lignes (i.e. sites) est plus faible que le nombre de colonnes (i.e. variables dépendantes). Tout d'abord, les profils cataboliques, les fonctions chimiques de la matière organique et les nutriments ont été analysés séparément par ACP. Ces ACP maximisent la variance de chacune des matrices de données. Ensuite, la CIA calcule l'ordination des sites pour les deux co-structures dans un seul plan factoriel défini par les deux premiers axes de la co-inertie. Une nouvelle carte factorielle est ensuite dessinée pour montrer la contribution de chaque variable explicative aux axes de la co-inertie (fonctions chimiques de la matière organique des sols, nutriments). L'analyse calcule le coefficient RV (coefficient de corrélation) entre les deux matrices et teste leur différence par les permutations de Monte Carlo. Les calculs ont été réalisés avec le logiciel R version 2.8.1 (R Development Core Team, 2007) et le package ADE-4 (Cadet and Thioulouse, 1998).

2.5.4. Analyses de regressions

Des régressions linéaires, suivies du test de Pearson, ont été utilisées pour tester les relations entre deux variables continues (Chapitre 3, 4 et 6). Les régressions linéaires et non

linéaires (quadratiques, inverses et segmentées) ont été utilisées pour étudier la nature des relations entre chaque variable physico-chimiques ou microbiennes et l'indice d'histoire d'incendie (WHI) (Chapitre 4). Pour cela les logiciels SigmaPlot version 8.02 (SPSS Inc.) et le programme SegReg (Oosterbaan, 1994) ont été utilisés. La sélection du meilleur modèle a été faite sur la base du test F. Le modèle avec la meilleure valeur de F fut considéré comme le meilleur modèle d'ajustement (Knell, 2009).

Des régressions multiples pas-à-pas ont été utilisées pour déterminer les combinaisons de variables expliquant significativement des activités microbiennes après apport de composts (Chapitre 6). Ces régressions ont été réalisées avec SPSS 12.0 (SPSS Inc., Chicago).

Chapitre 3

DYNAMIQUES DE RETOUR DES PROPRIÉTÉS ÉDAPHIQUES APRÈS LES FEUX

Ce chapitre 3 correspond à un article soumis pour publication dans la revue *Land Degradation and Development* : Guénon R., Vennetier M., Pailler A., Dupuy N., Roussos S., Gros R. ‘’Trends in recovery of Mediterranean soil chemical properties and microbial activities after infrequent and frequent wildfires’’.

ABSTRACT

Since the 1970s, increase in fire frequency has been observed in all European Mediterranean regions. The objectives of this study were 1) to determine the relative effects of an increase in wildfire frequency on the recovery at short and long-term of soil chemical and microbial properties and 2) to identify the mechanisms underlying the recovery of these soil properties by studying their relationships. Soils from seventeen plots (Maures mountains range, Var, France) classified into five wildfire regimes (i.e. not burned since at least 57 years, infrequently and frequently burned both with time since fire for 4 and 17 years) were analysed for nutrient content, chemical functions of soil organic matter (SOM) using FT-MIR spectroscopy and microbial mineralising activities. Our results showed that the frequent wildfire regime slowed down the recovery at short term of SOM quality and nutrient availability. Both low quantity and low quality (i.e. high percentage of aromatic and phenolic organic forms) of soil organic matter were found to be primary limiting factors of the soil microbial recovery four years after frequent wildfires. The frequent wildfires improved the recovery in net nitrification and nitrate content, leading an increase in catabolic evenness and a recovery in microbial C-substrate utilisation profiles between 4 and 17 years. However, frequent wildfires slowed down the recovery of hydrolytic enzyme pool (i.e. FDA hydrolases) and phenol oxidase activity, both involved in soil C dynamic. Overall, our observations suggest that 4 fires in 50 years is a threshold beyond which soil quality may be endangered.

Keywords: Recurrent wildfires, resilience, enzyme activities, Biolog®, N-mineralisation, FT-MIR spectroscopy.

3.1. Introduction

Wildfire is an historical disturbance which has played a large role in shaping ecology and evolution of Mediterranean vegetation and soils. Shifts in historical wildfire regimes have been observed in all European Mediterranean regions (Pausas et al., 2004; Curt et al., 2009). Since the 1970s, the abandonment of agricultural lands and the increase in human population and activities have resulted in a dramatic increase in number and size of fires, and thus locally in fire frequency. Recurrent wildfires, through erosion and repeated burnings, may progressively impoverish soil especially in terms of organic matter and nutrients (Reich et al., 2001; Knicker, 2007) to such a point that soil microbial properties may be durably altered. Despite the plethoric researches on vegetation dynamics following fire, as well as immediate post-fire changes in the chemical and microbiological properties of soils, little is known about the impact of recurrent wildfires on soil microbial recovery, and driving factors remain uncertain. Because, soil microbial communities are responsible for the conversion of organic matter into plant available nutrients (Wardle, 1998), increase in fire frequency and shorter periods for recovery of microbial mineralising activities, may lead to reduction in site productivity and to loss of ecosystem resilience in the long term. A better understanding of mechanisms underlying recovery of soil properties after fire can have direct implications in choice of land management options (Scheffer and Carpenter, 2003).

High soil temperature during fire have a temporary sterilising effect on soil (DeBano et al., 1998) resulting in immediate decrease in microbial biomass, basal respiration, enzyme activities, catabolic diversity and nitrogen mineralisation (Hernández et al., 1997; Ajwa et al., 1999; Boerner and Brinkman, 2003; D'Ascoli et al., 2005). In the same time, intense fires cause significant loss of organic matter and marked alterations in functional organic groups (Knicker et al., 2005), such as a removal of external oxygen groups, a reduction in the chain length of alkyl compounds, a conversion of amide-N into heterocyclic-N compounds, and a macromolecular condensation of humic substances (González-Pérez et al., 2004). Mineral N (NO3-–N and NH4+–N) content tends to immediately increase in the soil surface after burning (Wan et al., 2001). Both NH4+–N and NO3-–N pulses are however rapidly dissipated through plant assimilation and microbial activities (i.e. immobilisation for both NH4+–N and NO3-–N and nitrification), leaching, surface runoff and erosion (Wondzell et al., 2003). The ability of soil microbial communities and their activities to recover from disturbance depends

primarily on nutrient availability (Moore et al., 1993), pH (Wardle, 1998) and on soil organic matter remaining after disturbance or brought to soil by vegetation (Gros et al., 2004). Hart et al. (2005) suggested that, where frequent fires have shaped the evolutionary history of a forest, the recovery of soil microbial properties is mediated primarily by fire-induced changes in plant community. In these conditions the quantity and quality of soil resources are expected to be primary driving factors by which the vegetation influences soil microbial recovery. However, these driving factors remains inaccurate and few studies focused on the relationships between the soil resource and the microbial recovery after repeated fires over long term.

The mediterranean-type shrublands are considered to be highly resilient to recurrent wildfires (Keeley, 1986) as a consequence of the ability of plant species to rapidly recover from fire by means of a wide diversity of regeneration strategies from resprouting to fire-prone seed germination (Lloret, 1998). Over the long term, leaf traits of shrubland species are thought to be responsible for maintaining low nutrient levels in sites they colonize (Aerts, 1995). Moreover, this fast re-colonisation suggests a strong competition between the post-fire vegetation and soil microbes for limiting nutrients, which may, in turn, influences the dynamic of the soil microbial community (Wardle, 2002). In addition, the shrublands, often close to monospecific stands of pyrophyte species such as Cistus sp. and Quercus cocciferra (Trabaud and Lepart, 1981; Castells et al., 2004), are persistent and can be interpreted as a stage of regressive succession of the original forest. These plant species produce litter (leaves, roots) and exudates characterised by low N-content, high concentrations of aromatic secondary metabolites (i.e. phenol, condensed tannins) and high lignin content (Castells et al., 2004). Frequent fires could thus maintain a low SOM quality resulting in a loss of ability of soil microbial community by long-lasting inputs of biologically recalcitrant organic matter.

The first objective of this study was to determine the relative effects of an increase in wildfire frequency on the recovery at short and long-term of soil chemical properties and microbial mineralising activities. Secondly, relationships between soil chemical and microbial properties were studied to understand the mechanisms underlying their recovery. For these purposes, soils from 17 plots across the Mediterranean region in the south-eastern of France, with similar environmental characteristics, but different wildfire regimes (frequently vs infrequently burned), were analysed for organic and inorganic nutrient content and chemical functions of SOM using FT-MIR spectroscopy. All the microbial activities measured in these soils (i.e. net N-mineralisation, diverse C-substrate utilisation capabilities and enzymes

activities) are involved in organic matter mineralisation and thus in dynamic of C, N and P. Soil properties were measured 4 and 17 years after the last fire and compared to an unburned soil since at least 57 years. The frequent wildfire regime would cause a lasting increase in most recalcitrant organic matter forms resulting in changes of microbial catabolic capabilities and in a slowdown of mineralising activities. Moreover, decrease in such microbial mineralising activities may affect recovery of soil nutrient content.

3.2. Materials and methods

3.2.1. Study area, wildfire history and soil sampling

The study was conducted in the south-eastern area of the Maures mountain range (Var, France, 43°20' N and 6°37' E). The study area (90 km2) is characterised by a Mediterranean climate with dry, hot summers and wet and temperate winters. The mean annual precipitation is 920 mm (1962-2003). A persistent drought was recorded during the 2003-2007 period (640 mm per year) with a dramatic drop in 2007 (430 mm), the year of soil sampling. The average monthly temperature varies from 7°C in January to 22°C in July, with mean annual temperatures close to 14°C. Regarding vegetation, at the early stage of succession (i.e. following forest fires), plant communities are dominated by herbaceous and fast growing species such as Cistus monspeliensis L., Calycotome spinosa L., Erica arborea L. and Quercus suber L. At the later successional stage (i.e. with no fire for at least 57 years), closed forests are dominated by a tree stratum of Quercus suber L., Quercus ilex L. and Pinus pinaster Aiton subsp. pinaster.

Burned areas were mapped using a series of aerial pictures spanning a 57-year period from 1950 to 2007 and public fire databases. This mapping allowed us to reconstitute the history of the wildfire regimes for both frequent and infrequent regimes over this 57-years period. Soil samples were collected at 17 different sampling sites (300-400 m2 in size) (Table 3.1) in order to represent 5 different burning histories, or wildfire regimes. The dates of each wildfire for the five regimes were reported in Table 3.1. These wildfire regimes included 5 independent sites not burned at least since 1950 (NB-57yrs); 3 independent sites infrequently burned (1-2 wildfires) with the last wildfire in 1990 or 1982 (IB-17yrs); 3 independent sites frequently burned (4 wildfires) with the last wildfire in 1990 (FB-17yrs); 3 independent sites

infrequently burned (2 wildfires) with the last wildfire in 2003 (IB-4yrs); and finally 3 independent sites frequently burned (4 wildfires) with the last wildfire in 2003 (FB-4yrs). Soils are mainly shallow alterites (10-30 cm) developed on a migmatitic gneiss (crystalline siliceous rock) as parent rock. Unburned sites present A (B) CR profile and they can be classified as Dystric Cambisol (WRB classification). Under a thick litter (1–3 cm), the A horizon, 5 cm thick, is characterized by a brown color due to organic matter (OM) and a low content of coarse fragments (10–30%). Soil pH is around 6–6.5. For burned soils, classified as Dystric Leptosol, only A and CR horizons are present. The other differences with the unburned soils are that the A horizon is clearer and that the transition from CR horizon to parent rock is faster. Moreover, these sites present similar exposition (SE-SW), slope (10-40%), altitude (60-360 a.s.l.) and forest type (i.e. cork oak being common to all areas). So, in this work the “fire factor” was the sole studied influencing factor. Dominant plant species and soil type of each wildfire regime are reported in Table 3.1.

For each plot, after removing the thin litter layer from the soil surface, five soil samples, each 20×20 cm in size, were randomly cored in February 2007 from the A horizon (0 to 5 cm depth) and pooled to form one composite sample. The composite soil samples were sieved (2 mm mesh size) and homogeneously mixed. Back to the laboratory, soil samples were pre-incubated at 25°C and 60% of water holding capacity (WHC) for one week to obtain detectable microbial activities. All microbial and chemical properties were measured on these pre-incubated soils.

Soil was sampled in February 2007. For each plot, five bulk samples of the surface layer (0-5 cm depth), each 20×20 cm in size, were randomly cored and pooled. The composite soil samples were sieved (2 mm mesh size) and homogeneously mixed. Back to the laboratory, soil samples were pre-incubated at 25°C and 60% of water holding capacity (WHC) for one week to obtain detectable microbial activities. All microbial and chemical properties were measured on these pre-incubated soils.

Table 3.1: Wildfire regimes and associated vegetation structure and soil types

Codes/ Wildfire regimes	Wildfire history since 1950	Vegetation structure	Dominant species	Soil type (WRB classes)
NB-57yrs/ Not burned at least since 57 years	Not burned since 1950 Not burned since 1950 Not burned since 1950 Not burned since 1950 Not burned since 1950	Closed oak forest	*Quercus suber, Q. ilex, Q. Pubescens*	Dystric Cambisol
IB-17yrs/ Infrequently burned with time since fire for at least 17 years	1982 1990 1990/ 1964	Cork oak with high maquis	*Q. suber, Erica arborea, Arbutus unedo, Cistus monspeliensis, Calycotome spinosa*	Dystric Leptosol
FB-17yrs/ Frequently burned with time since fire for 17 years	1990/ 1982/ 1978/ 1962 1990/ 1982/ 1978/ 1964 1990/ 1985/ 1978/ 1964	Cork oak with high maquis	*Q. suber, Laburnum vulgare, A. unedo, E. Arborea, C. spinosa*	Dystric Leptosol
IB-4yrs/ Infrequently burned with time since fire for 4 years	2003/ 1962 2003/ 1982 2003/ 1982	Low maquis under Cork oak	*C. monspeliensis, C. spinosa, C. salviifolius, E. arborea, C. Albidus, Q. suber*	Dystric Leptosol
FB-4yrs/ Frequently burned with time since fire for 4 years	2003/ 1990/ 1982/ 1959 2003/ 1990/ 1982/ 1959 2003/ 1990/ 1982/ 1959	Low maquis under sparse Cork oak	*C. salviifolius, C. Monspeliensis, C. Spinosa, Q. Suber*	Dystric Leptosol

3.2.2. Soil chemical and FT-MIR spectroscopic properties

Soil total organic carbon (TOC) and total nitrogen (TN) content were measured on air-dried samples using a C/N elemental analyzer (Flash EA 1112 series ThermoScientific). Soil organic matter content was obtained by loss on ignition (16h, 550°C). Inorganic-N forms (NH_4^+–N and NO_3^-–N) were extracted and analysed as described below. Available phosphorus (PO_4^{3-}–P) was extracted with 0.1 M citric acid and subsequently measured colorimetrically using the French norm NF X31-160 (AFNOR, 1996).

Fourier Transform Mid Infrared (FT-MIR) spectroscopy was used to identify and quantify the presence of important organic functional groups in soil samples. Prior to FT-MIR analysis, soils were pre-treated with chlorhydric and fluorhydric acid according to the procedure of Gelinas *et al.* (2001). This pre-treatment removes metal oxides and silicate minerals which absorb in mid-infrared spectroscopy wavelengths (Johnston and Aochi, 1996), concentrates organic matter (Kögel-Knabner, 1997) and thus improves peaks resolution. Soils were freeze dried and then deposited on an attenuated total reflection (ATR) cell equipped with a diamond crystal. FT-MIR spectra were acquired using a Thermo Nicolet Avatar 370 spectrometer equipped with a DTGS detector, an Ever-Glo source and a Kbr/germanium beam-splitter. Five spectra per sample were recorded between 700 cm^{-1} and 4000 cm^{-1}, the nominal resolution was 4 cm^{-1}. For each spectrum, 64 scans were co-added. Air was taken as reference for the background spectrum before each sample. FT-MIR spectral data in the diamond interference region (2200-1900 cm^{-1}) were excluded from analyses (Artz *et al.*, 2008). Functional groups of soil organic matter were defined according to Haberhaueur *et al.* (1998), Artz *et al.* (2008) and Tinoco *et al.* (2006) and selected absorption peaks were integrated using the software Thermo Omnic 7.1 (Thermo Electron. Corp., Waltham, MA, USA). Ten absorption peaks were recorded at 2920, 2850, 1690, 1633, 1556, 1538, 1521, 1453, 1420, 1373 cm^{-1}. The peaks at 2920 and 2850 cm^{-1} correspond, respectively, to asymmetric and symmetric C–H vibrations of the CH_2 group of aliphatic structures (e.g. wax, fats, and lipids). The shoulder at 1690 cm^{-1} represents C=O vibrations of carboxylate. The broad peak at 1633 cm^{-1} can be assigned to both C=O vibrations of carboxylate and C=C vibrations of aromatic molecules. The peaks at 1556 and 1538 cm^{-1} can be attributed to both N–H (amide II) and C=C vibrations of aromatic molecules and 1521 cm^{-1} only to N–H vibrations. The peaks recorded at 1373 and 1453 cm^{-1} correspond to aliphatic and phenolic C–H deformations and the peak at 1420 cm^{-1} is due to symmetric C–O stretching of

carboxylate/carboxylic structures. Absorption peaks with overlapped mineral and organic assignments were removed from the analysis (i.e. peaks at 3690, 3620, 1161, 1010, 825 and 740 cm^{-1}) (Haberhauer *et al.*, 1998; Rumpel *et al.*, 2006a). The broad O–H band located at 3600–3000 cm^{-1} was not integrated, as the intensity of the O–H band is influenced by water content and thus provides only limited information about soil organic matter composition (Kaiser and Ellerbrock, 2005). In order to determine relative changes in functional groups of soil organic matter, the relative absorbance (rA) of each peak was calculated by dividing the height of a selected peak by the sum of the heights of all peaks (e.g. $rA_{2920} = A_{2920} / \Sigma A_{(2920-1373\ cm-1)} \times 100$).

3.2.3. Microbial biomass

Microbial biomass (MB) was estimated using substrate-induced respiration (SIR) rates (Anderson and Domsch, 1978). Ten grams (dry weight equivalent) of sub-samples were placed in 117 ml glass jars and amended with powdered glucose (1000 µg C g-1 soil). One ml of air was sampled in the head space with a syringe and injected into a gas chromatograph (Chrompack CHROM 3 – CP 9001) equipped with a thermal conductivity detector and a packed column (Porapack) to analyse CO2 production. The CO2 concentration of flushed air was subtracted from CO2 concentrations of each samples and resulting values were adjusted to 22°C according to Ideal Gas Laws using a Q10 = 2. SIR rates were converted into MB using equations given by Beare et al. (1990).

3.2.4. Net ammonification and nitrification

Two sub-samples of 10 g (dry wt equiv.) of soil were weighed on two distinct 500 mL glass jars. One of the sub-sample (referred as t0) was immediately analysed for inorganic-N (NH_4^+–N and NO_3^-–N) concentrations after extraction (100 mL, 1 M KCl). Samples 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-salicylate method) and NO_3^-–N (nitrosalicylic acid method) (Mulvaney, 1996). The second sub-sample was incubated for 30 days at 25°C (t30) and inorganic-N forms were analysed as described above. During incubation, jars were periodically weighed and initial moisture content restored using a fine-mist spray. We defined net ammonification and net nitrification as the difference in NH_4^+–N and NO_3^-–N concentrations before and after the incubation (t30 – t0).

3.2.5. Soil microbial C-substrate utilisation profiles and enzyme activities

The C-substrate utilisation profiles of cultivable microbial communities were determined with BIOLOG® EcoPlates (BIOLOG Inc., Hayward, CA) using a procedure adapted from Garland and Mills (1991). We purposely did not adjust the inoculum in order to obtain a uniform cell density as we considered the total microbial number as an inherent characteristic of microbial communities of each plot. Briefly, 5 g (dry weight equivalent) of sub-sample was added to 50 mL of sterile 0.1 % Na-pyrophosphate solution (pH 7). The mixture was then shaken on an orbital shaker for 20 min, and centrifuged at 500 *g* for 10 min at 4 °C to obtain a 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. Plates were incubated at 25°C and colour formation in each well was monitored at monochromatic light (595 nm) absorbance using an Elisa 960 Metertech® spectrophotometer. Measurements were performed three times a day until average well colour development (AWCD) exceeded a value of 1.0 standardised absorbance units (i.e. 3–5 days incubation). The incubation time ($T_{0.5}$) corresponding to an AWCD = 0.5 absorbance unit was then determined for each triplicate set of a plate. Before statistical analyses, the absorbance value of each control well at $T_{0.5}$ was subtracted from absorbance values at $T_{0.5}$ of the 31 associated wells containing C-substrates.

Fluorescein diacetate hydrolase (FDAse) activity was assayed according to the modified method of Green *et al.* (2006). Four mL of 60 mM potassium phosphate buffer (pH 7.6) with 50 µl of FDA solution (2mg/mL of acetone) were added to 0.5 g of soil (fresh mass) and incubated at 30°C for one hour. The reaction was stopped by adding 2 mL of acetone, and the mixture was immediately centrifuged for 2 min at 12 000 g. The fluorescein released from FDA was measured in the supernatant at 490 nm.

β-glucosidase activity was assayed according to the modified method of Eivazi and Tabatabai (1988). Six mL of sodium acetate buffer (0.1 M, pH 5) and 1 mL of 5 mM *p*-nitrophenyl-β-glucopyranoside (*p*NPG) were added to 0.5 g of soil (fresh mass) and incubated (1 h, 30 °C). The reaction was stopped and colour revealed by adding 1 mL of 0.5 M $CaCl_2$

and 4 mL of 0.5 M NaOH, overall mixed and immediately centrifuged for 2 min at 12 000 g. The amount of *p*-nitrophenol released from *p*NPG was measured in the supernatant at 412 nm. Activities of acid and alkaline phosphomonoesterases (AcP and AlP) were assayed according to the method of Tabatabai and Bremmer (1969). One mL of *p*-nitrophenyl phosphate (*p*NPP, 5 mM) was added to either 6 mL of sodium acetate buffer for AcP (0.1 M, pH 5.0) or glycine-NaOH buffer for AlP (0.1 M, pH 9.0), thus added to 0.5 g of soil sample (fresh mass) and incubated 1 h at 30 °C. The reaction was stopped and colour revealed by adding 1 mL of 0.5 M $CaCl_2$ and 4 mL of 0.5 M NaOH, overall mixed and immediately centrifuged for 2 min at 12 000 g. The amount of *p*-nitrophenol released from *p*NPP was measured in the supernatant at 412 nm.

Phenol oxidase activity was assessed according to the modified method of Saiya-Cork *et al.* (2002). Six mL of 25 mM L-DOPA solution (L-3,4-dihydroxyphenylalanine) in acetate buffer (50 mM, pH 6.5) were added to 0.5 g of soil (fresh mass), mixed and incubated for 15 min. in darkness at 25°C. The mixture was centrifuged at 12000 g before measuring absorption at 590 nm.

For all enzyme assays, no toluene was added to the mixture because of the short incubation times. Enzyme assays were performed in 3 replicates for each soil sample. A unit (U) of enzyme activity was defined as a µmole of substrate hydrolysed or oxidised per min^{-1}, and per g of soil dry weight (U g^{-1} DW).

3.2.6. Statistical analyses

Effects of wildfire regimes on soil microbial biomass, net ammonification and nitrification, enzyme activities, TOC, TN and nutrients content, chemical functions of SOM (i.e. FT-MIR peaks) were assessed using analysis of variance (ANOVA). The least significant difference (LSD) test was used to determine which regimes were significantly different from one another. When necessary, data were transformed to meet the assumptions of normality and homogeneity of variances. These analyses were performed using Statistica 6.0.

Principal component analyses (PCA) were performed on the covariance matrix obtained from Biolog® data using Primer software v6 (Primer-E Ltd, UK). The PCA provided an ordination of the microbial C-substrate utilisation profiles, which were plotted in one and two dimensions respectively, based on scores for the first two principal components (PC). A correlation circle was computed for Biolog® data to understand the contribution of each C-substrate to the principal component axes. Effects of wildfire history on microbial C-

substrate utilisation profiles and differences between wildfire regimes were tested by main and pair-wise tests in PERMANOVA using Primer software v6 (Primer-E Ltd, UK). PERMANOVA is a routine for testing the response of many variables to one or more factors in an analysis of variance (ANOVA) experimental design in the basis of any resemblance measure, using permutation methods (Anderson et al., 2008). PERMANOVA eliminates the requirement of normal distribution that must be satisfied for the analysis of variance but which is not the case for many kinds of multivariate ecological data (Legendre and Anderson, 1999).

Pearson's correlations were used to test relationships between measured soil chemical properties (pH, TOC, TN and nutrients contents), chemical functions of SOM (i.e. FT-MIR peaks) and enzyme activities. Co-inertia analyses (CIA) were computed to highlight the possible relationships between microbial C-substrate utilisation profiles and soil chemical properties or chemical functions of SOM. CIA is a multivariate analysis technique that enables a description of the relationships between two data tables (Dray et al., 2003). CIA can be used even if the number of rows (i.e. sampling sites) is lower than the number of columns (i.e. measured variables), which is the case in this paper. C-substrate utilisation profiles, chemical properties and chemical functions of SOM were firstly analysed by PCA. Separates PCAs find axes maximising inertia in each data tables. Then CIA ordinates the wildfire regimes for both co-structures on a single factorial map defined by the two first co-inertia axes. Another factorial map was drawn to show the contribution of soil chemical properties or chemical functions of SOM (i.e. FT-MIR peaks) to the co-inertia axes and thus to interpret the wildfire regime ordinations. To assess the significance of the CIA results, a Monte-Carlo permutation test was computed on the RV coefficient. This procedure tests the link between two tables by permuting simultaneously the rows of both tables. Computations were made with the free software R version 2.6.2 (R Development Core Team, 2007).

3.3. Results

3.3.1. Wildfire regime effects on recovery of soil chemical properties

Total organic carbon (TOC) and total nitrogen (TN) content, as well as $P0_4^{3-}$-P content which however strongly decreased with time since fire for infrequently burned soils, were not significantly related to wildfire regimes (Table 3.2). The C/N ratio was relatively constant and higher than 17. Wildfire regimes had variable effects on recovery of soil organic matter content (SOM) and NO_3^--N content. SOM content was found significantly lower (ANOVA, $P<0.05$) in soils four years after frequent wildfires (FB-4yrs) than in unburned soils since at least 1950 (NB-57yrs) (Table 3.2). SOM content completely recovered seventeen years after frequent wildfires (FB-17yrs). Nitrate content in IB-4yrs and FB-4yrs were significantly lower than in NB-57yrs (Table 3.2). Seventeen years after infrequent wildfires (IB-17yrs), nitrate content was significantly lower than in NB-57yrs and FB-17yrs.

Relative intensities of FT-MIR peaks are shown in Table 3.3. The two main peaks at 2920 (asymmetric C–H bonds) and 1633 cm^{-1} (C=C and C–O bonds) showed a high cumulative relative intensity of at least 56 % (FB–2003) rising to 69 % (IB-1990) (Table 3.3). Five peaks at 2920 (asymmetric C–H bonds), 2850 (symmetric C–H), 1556 (N–H), 1538 (N–H and C=C) and 1453 (C–H) cm^{-1} were significantly affected by the studied wildfire regimes (ANOVA test, Table 3.3). The relative absorbance of C–H bonds (i.e. 2920 and 2850 cm^{-1}) of aliphatic structures (e.g. wax, fats, and lipids) increased from the recent wildfire regimes (IB-4yrs and FB-4yrs) to the older regimes (NB-57yrs, IB-17yrs and FB-17yrs). A significant difference between frequent and infrequent wildfire regimes was measured only for the peak at 2920 cm^{-1} (asymmetric C–H bonds) and when the last fire occurred in 2003. Significant decreases in the relative intensity of the peaks at 1556 cm^{-1} and 1538 cm^{-1} (N–H and C=C) were observed from FB-4yrs to FB-17yrs whereas no significant difference was found between NB-57yrs, IB-17yrs and IB-4yrs. Concerning the peak at 1453 cm^{-1} (C–H), we measured significant decrease between FB-4yrs and FB-17yrs. Significant differences were also found between IB-4yrs and FB-4yrs, and between IB-17yrs and FB-17yrs.

Table 3.2: Soil nutrient contents

	ANOVA test		Wildfire regimes				
	F	p	NB–57yrs	IB–17yrs	FB–17yrs	IB–4yrs	FB–4yrs
Organic matter (%)	4.21	<0.05	8.5 ±1.9 b	7.9 ±1.6 b	8.9 ±1.2 b	6.3 ±0.2 ab	4.9 ±0.8 a
Total organic C ($g.kg^{-1}$)	ns	ns	43.4 ±12.1	45.37 ±13.6	49.1 ±8.2	34.6 ±2.3	23.8 ±9.1
Total N ($g.kg^{-1}$)	ns	ns	2.5 ±0.7	2.2 ±0.7	3.1 ±1.0	2.3 ±0.6	1.5 ±0.7
C/N ratio	ns	ns	20.5 ±3.5	21.5 ±6.2	17.2 ±2.9	17.1 ±4.9	20.9 ±6.2
NH_4^+–N ($mg.kg^{-1}$)	ns	ns	4.24 ±0.4	4.09 ±1.4	5.27 ±2.9	3.65 ±1.4	3.38 ±0.6
NO_3^-–N ($mg.kg^{-1}$)	5.84	<0.01	9.7 ±5.1 b	0.7 ±0.4 a	11.2 ±6.0 b	0.5 ±0.1 a	0.7±0.8 a
PO_4^{3-}– P ($mg.kg^{-1}$)	ns	ns	86.0 ±37.0	89.0 ±63.0	164.0 ±65.0	304.0 ±224	137.0 ±44.0

Mean values (±standard deviation) followed by the same letters were not significantly different at P<0.05 (LSD), ns: no significant ANOVA test at P=0.05.

Table 3.3: Mean relative intensities of the FT-MIR peaks

		ANOVA test		Wildfire regime				
Wavenumbers (cm^{-1})	Assignments	F	p	NB–57yrs	IB–17yrs	FB–17yrs	IB–4yrs	FB–4yrs
2920	asym C–H	18.9	<0.001	25.9 ±1.2 c	25.7 ±0.5 c	23.5 ±0.8 bc	20.9 ±3.4 b	16.1 ±1.3 a
2850	sym C–H	6.5	<0.01	7.4 ±1.1 c	6.4 ±2.6 bc	7.3 ±0.9 c	5.2 ±1.5 ab	4.0 ±0.4 a
1690	C=O	ns	ns	1.7 ±1.1	2.1 ±0.3	2.6 ±1.5	3.5 ±3.0	4.4 ±0.8
1633	C=C and C=O	ns	ns	38.2 ±1.7	43.4 ±3.2	42.4 ±4.4	43.6 ±8.2	39.9 ±1.0
1556	N–H (amide II), C=C	3.1	<0.05	4.0 ±1.0 a	4.3 ±0.2 a	3.0 ±2.4 a	5.1 ±3.4 ab	7.9 ±1.1 b
1538	N–H (amide II), C=C	3.2	<0.05	3.9 ±1.2 a	4.1 ±0.2 a	4.0 ±2.1 a	4.4 ±2.6 a	7.9 ±1.5 b
1521	N–H (amide II)	ns	ns	4.7 ±1.1	4.1 ±0.9	4.6 ± 2.3	4.6 ±1.3	4.6 ±0.8
1453	C–H	7.6	<0.01	5.2 ±0.8 bc	2.3 ±0.4 a	3.9 ±0.9 b	4.5 ±2.0 ab	6.8 ±0.2 c
1420	C–O	ns	ns	3.9 ±1.1	3.5 ±0.4	3.8 ±1.1	3.8 ±0.8	3.9 ±0.4
1373	C–H	ns	ns	5.1 ±0.5	5.7 ±0.6	2.9 ±0.9	4.4 ±0.5	4.6 ±0.2

Mean values (% ±standard deviation) with the same letters were not significantly different at P<0.05 (LSD), ns: no significant ANOVA test at P=0.05. Asym: asymmetric, sym: symmetric.

3.3.2. Wildfire regime effects on recovery of soil microbial activities

The net ammonification was not significantly related to wildfire regimes (Figure 3.1a). The net nitrification presented two different trends in recovery (Figure 3.1b). The net nitrification increased significantly from FB-4yrs to FB-17yrs. The net nitrification remained significantly lower in FB-17yrs than in NB-57yrs (ANOVA, P<0.05). Negative values in IB-17yrs and significant difference between IB-17yrs and NB-57yrs were found.

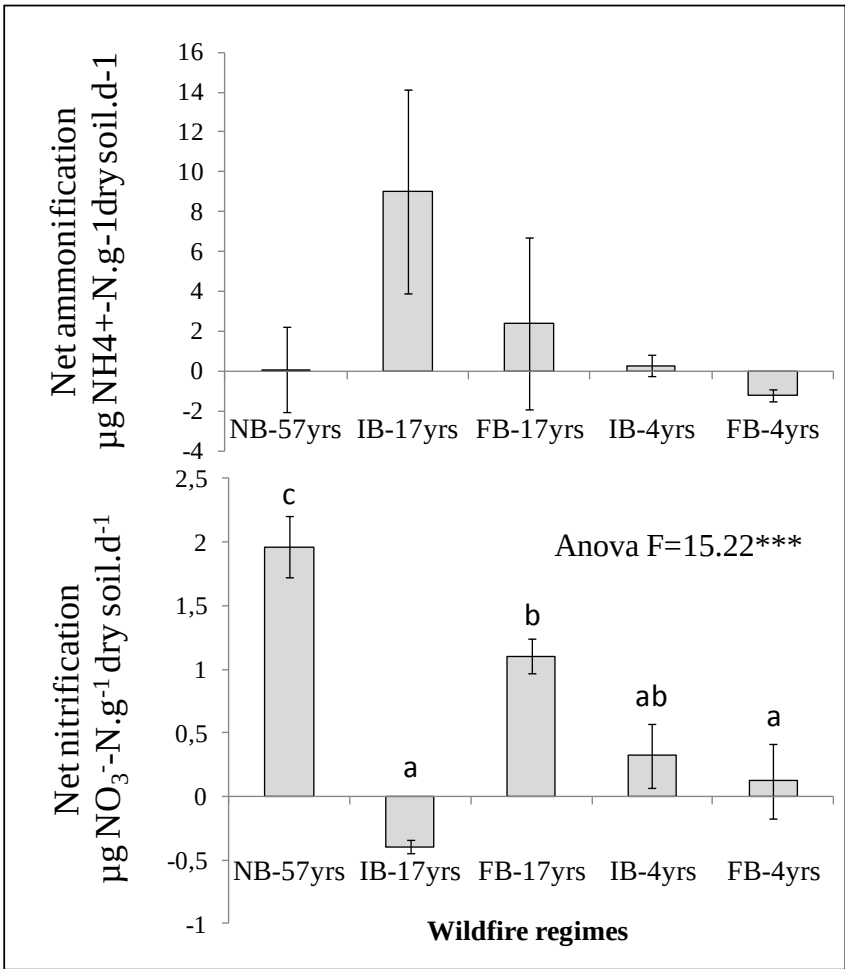


Figure 3.1: Net ammonification (a) and net nitrification (b) of not burned soils (NB-57yrs), infrequent (IB-4yrs and IB-17yrs) and frequent (FB-4yrs and FB-17yrs) wildfire regimes. Means with the same letters were not significantly different at P<0.05 (LSD test); Vertical bars are standard deviations. *** indicate a significant ANOVA test at P<0.001.

The C-substrate utilisation profiles were analysed by PCA. The first two principal components (PCs) (Figure 3.2a) accounted for 58% of the total variance in the data, with PC1 accounting for 41.5% and PC2 for 16.5%. PERMANOVA was used to test the differences

between the wildfire regimes using the variance explained by the 31 axes of the PCA. IB-17yrs, IB-4yrs and FB-4yrs were significantly discriminated from NB-57yrs (PERMANOVA pair-wise test; P<0.01). The correlation circle (Figure 3.2b) showed that 11 C-substrates (i.e. arrows) were highly and positively correlated (r>0.5 on PC1) to the ordination of IB-4yrs, FB-4yrs and IB-17yrs. These 11 C-substrates are carboxylic acids, carbohydrates, amines, amino acids and polymers. Among these 11 C-substrates, five were N-containing substrates (i.e. L-Arginine, D-Glucosaminic acid, L-Asparagine, Putrescine and L-Serine) and 3 were complex substrates such as phenolic substrate highly used (i.e. 4-hydroxybenzoic acid) and 2 were polymers. In opposition, only 4 C-substrates were highly and positively correlated (r>0.5 on PC1) with the ordination of NB-57yrs and FB-17yrs which the three mostly used were substrates containing glucose-molecules (i.e. β-methyl-D-glucoside, glucose-1-phosphate, D-cellobiose).

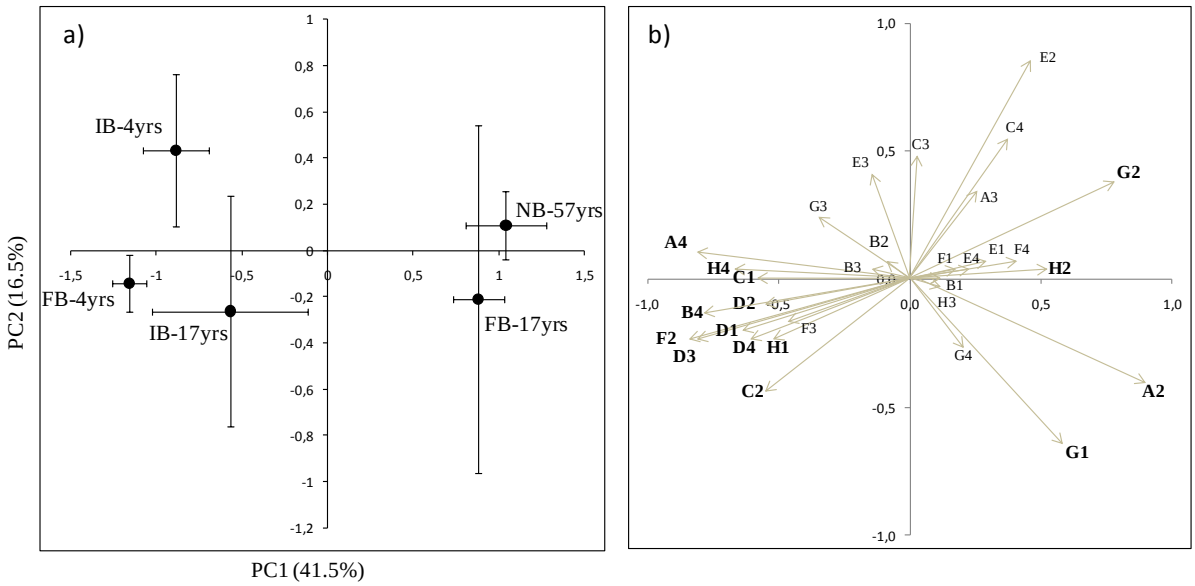


Figure 3.2: Factorial map (PC1×PC2) (a) and correlation circle (b) obtained from principal component analysis on microbial C-substrate utilisation profiles of not burned soils (NB-57yrs), infrequent (IB-4yrs and IB-17yrs) and frequent (FB-4yrs and FB-17yrs) wildfire regimes. *A2: β-methyl-D-glucoside ; A3: D-galactonic acid γ-lactone; A4: L-arginine; B1: pyruvic acid methyl ester; B2: D-xylose; B3: D-galacturonic acid; B4: L-asparagine; C1: tween 40; C2: i-erythritol; C3: 2-hydroxy benzoic acid; C4: L-phenylalanine; D1: tween 80; D2: D-mannitol; D3: 4-hydroxybenzoic acid; D4: L-Serine; E1: α-cyclodextrin; E2: N-acetyl-D-glucosamine; E3: γ-hydroxybutyric acid ; E4: L-threonine; F1: glycogen; F2: D-glucosaminic acid; F3: itaconic acid; F4: glycyl-L-glutamic acid; G1: D-cellobiose; G2: glucose-1-phosphate; G3: α-ketobutyric acid; G4: phenylethyl amine; H1: α-D-lactose; H2: D,L α-glycerol phosphate; H3: D-malic acid; H4: putrescine.* Substrates in bold had correlation coefficient higher or equal to 0.5. Bars represent standard errors.

Each enzyme activity had different trends in recovery after both wildfire regimes (Figure 3.3). FDAse activity was significantly higher (P<0.05) for FB-4yrs, IB-4yrs and FB-17yrs than NB-57yrs (Figure 3.3a). β-glucosidase activity was significantly higher for IB-4yrs and FB-4yrs than NB-57yrs, IB-17yrs and FB-17yrs (Figure 3.3b). Acid and alkaline phosphomonoesterase activities were both significantly lower for IB-4yrs and FB-4yrs than other regimes (Figure 3.3c). Phenol oxidase activity was significantly lower for FB-4yrs and FB-17yrs than NB-57yrs (Figure 3.3d).

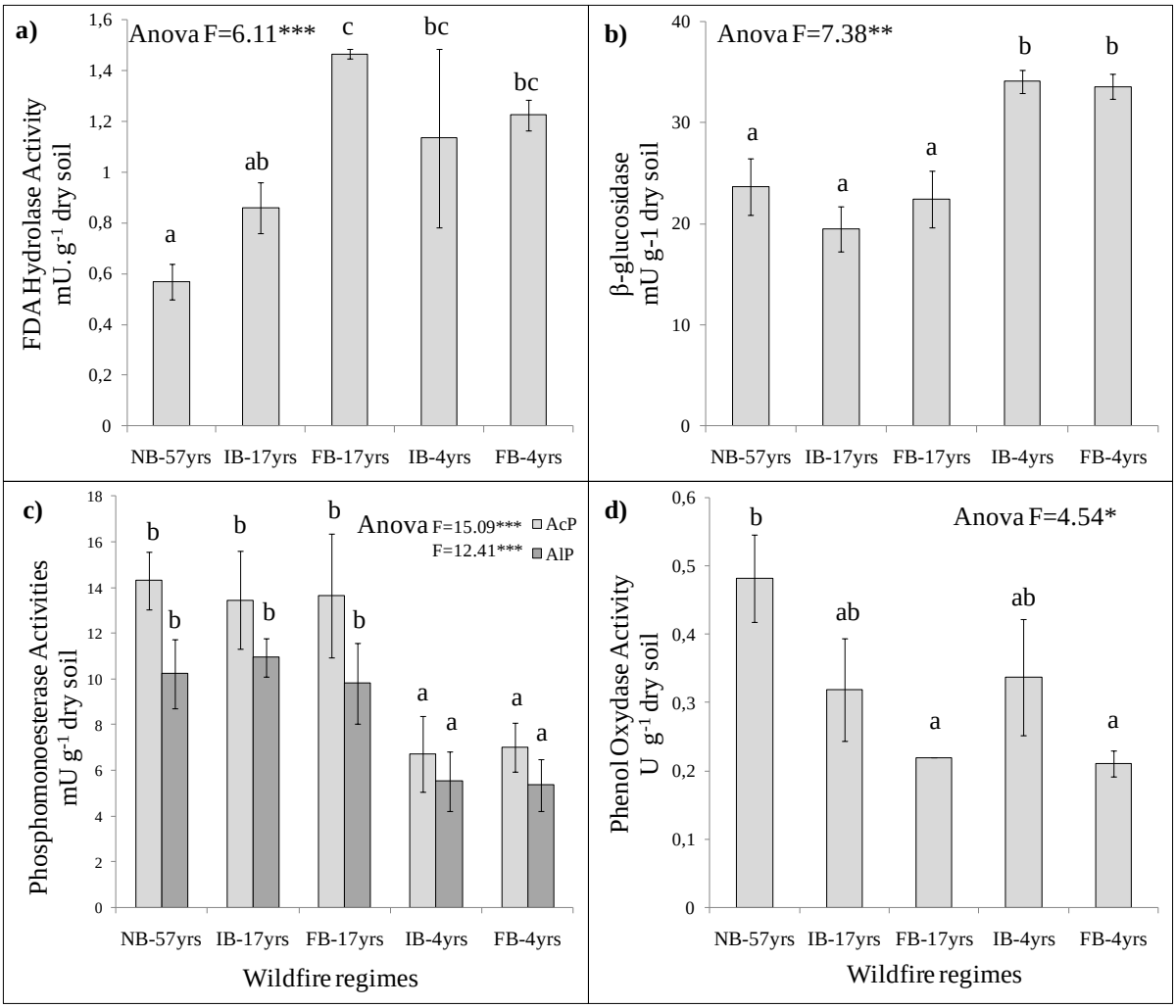


Figure 3.3: Activities of FDA hydrolase (a), β-glucosidase (b), acid (AcP) and alkaline (AlP) phosphomonoesterases (c), and phenol oxidase (d) of not burned soils (NB-57yrs), infrequent (IB-4yrs and IB-17yrs) and frequent (FB-4yrs and FB-17yrs) wildfire regimes. Means with the same letters were not significantly different at P<0.05 (LSD test); vertical bars are standard deviations. *, **, *** indicate a significant ANOVA test at respectively P<0.05, P<0.01 and P<0.001.

There was no significant difference among infrequently and frequently burned soils for recovery of microbial biomass (Figure 3.4). A lower significant microbial biomass was measured for the soils burned in 2003 (IB-4yrs and FB-4yrs) compared to other regimes. No significant difference was measured between NB-57yrs and IB-17yrs or FB-17yrs.

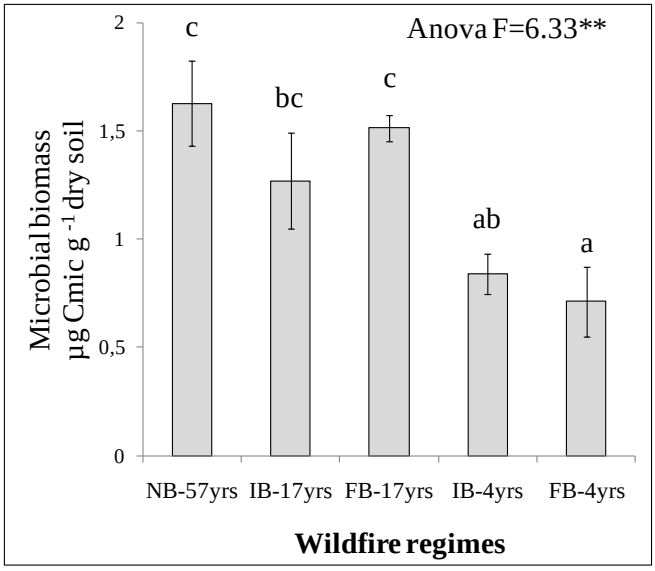


Figure 3.4: Microbial biomass of not burned soils (NB-57yrs), infrequent (IB-4yrs and IB-17yrs) and frequent (FB-4yrs and FB-17yrs) wildfire regimes. Means with the same letters were not significantly different at P<0.05 (LSD test); Vertical bars are standard deviations. ** indicate a significant ANOVA test at P<0.01.

3.3.3. Relationships between soil microbial activities and chemical properties

Relationships between C-substrate utilisation profiles (CLLPs) and soil chemical properties were tested by CIA. The Monte-Carlo permutation tests revealed an insignificant co-structure between C-substrate utilisation profiles and nutrient contents (RV=0.42, P=0.08), but significant co-structures between C-substrate utilisation profiles and relative intensities of FT-MIR peaks (RV=0.44, P<0.05). The first axis of the factorial map obtained from CIA between CLLPs and relative intensities of FT-MIR peaks (Figure 3.5a) explained 62.5% of the total co-inertia and the second axis accounted for 20.5%. In the factorial map of this CIA, the C-substrate utilisation profiles of each wildfire regimes (black circles) were ordered on the first axis as follows: FB-4yrs, IB-4yrs, IB-17yrs, FB-17yrs, and NB-57yrs. The long arrows

for infrequently burned soils (IB-4yrs and IB-17yrs) showed a weaker co-structure between CLPPs and FT-MIR peaks for these regimes. Moreover, the direction of these arrows (i.e. from the negative to the positive part of the map) indicated a recovery of the relative intensities of FT-MIR peaks for infrequently burned soils. The Figure 3.5b showed that the chemical functions N–H, C=C and C=O (i.e. 1538, 1556 and 1690 cm-1) had the higher contribution to the negative part of the first axis. These chemical functions were thus correlated to the C-substrate utilisation profiles of FB-4yrs, IB-4yrs and IB-17yrs. In opposition, the C–H functions of aliphatic structures (i.e. 2920 and 2850 cm-1) contributed the strongest in the positive part of the first axis. These chemical functions were positively correlated with the C-substrate utilisation profiles of FB-17yrs and NB-57yrs.

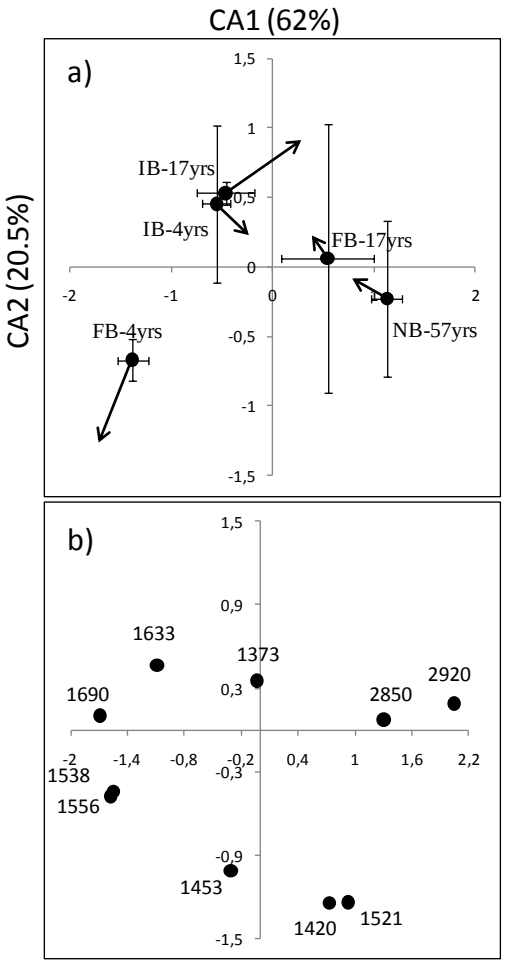


Figure 3.5: Factorial maps (a) and associated contributions to canonical axes (b) obtained from coinertia analysis between C-substrate utilisation profiles and chemical functions of organic matter using FT-MIR. Treatments are not burned soils (NB-57yrs), infrequently (IB-4yrs and IB-17yrs) and frequently (FB-4yrs and FB-17yrs) burned soils. Bars represent standard errors. The head of arrows represent the ordination of FT-MIR data.

Relationships between soil chemical properties and microbial properties (i.e. FDAse, β-glucosidase, acid and alkaline phosphomonoesterases, and phenol oxidase, microbial biomass, net ammonification and net nitrification) were tested by Pearson's correlations. Results are shown in Table 3.4. The SOM content was positively correlated ($P<0.05$) to phosphomonoesterase activities, microbial biomass and net nitrification, and was negatively correlated ($P<0.05$) to the β-glucosidase activity. The relative intensity of CH2 groups of aliphatic structures was positively related ($P<0.05$) to phosphomonoesterase and phenol oxidase activities, microbial biomass and net nitrification, and negatively correlated ($P<0.05$) to both FDAse and β-glucosidase activities. In opposition, the high relative level of aromatic functions was negatively correlated ($P<0.05$) to all microbial properties excluding FDAse and β-glucosidase activities.

Table 3.4: Correlation coefficients (r values) between enzyme activities and soil chemical properties and relative intensities of FT-MIR peaks

	FDA hydrolase	β-glucosidase	Acid phospho monoesterase	Alkaline phospho monoesterase	Phenol oxidase	Microbial biomass	Net ammonification	Net nitrification
Soil chemical properties								
OM %	-0.14	-0.61*	0.79***	0.84***	0.57*	0.86***	0.43	0.60*
TOC $g.kg^{-1}$	-0.12	-0.50*	0.69***	0.75***	0.52*	0.86***	0.33	0.51*
TN $g.kg^{-1}$	0.04	0.24	0.43	0.50*	0.47	0.73***	0.38	0.34
C/N	-0.26	0.05	0.17	0.12	0.05	-0.30	-0.20	0.08
NH_4^+–N $mg.kg^{-1}$	0.10	-0.26	0.34	0.35	0.10	0.01	0.04	-0.29
NO_3^-–N $mg.kg^{-1}$	-0.22	0.19	0.57*	0.53*	0.19	0.14	0.40	0.66**
PO_4^{3-}–P $mg.kg^{-1}$	0.07	-0.02	-0.58*	-0.58*	-0.43	-0.24	-0.03	-0.22
FT-MIR peaks								
2920 (asym C–H)	-0.56*	-0.68**	0.69**	0.65**	0.57*	0.67**	0.34	0.48*
2850 (sym C–H)	-0.59*	-0.68**	0.63**	0.63**	0.75**	0.76**	0.20	0.52*
1690 (C=O)	0.22	0.32	-0.52*	-0.43	-0.26	-0.55*	-0.30	-0.36
1633 (C=C, C=O)	0.06	0.16	0.04	-0.07	-0.21	-0.23	0.07	-0.11
1556 (N–H, C=C)	0.62*	0.53*	-0.28	-0.26	-0.51*	-0.64**	-0.45	-0.51*
1538 (N–H, C=C)	0.68**	0.51*	-0.63*	-0.57*	-0.57*	-0.64**	-0.50*	-0.59*
1521 (N–H)	0.06	0.25	0.00	0.10	0.00	0.29	0.25	0.14
1453 (C–H)	0.15	0.45	-0.52*	-0.58*	-0.13	-0.22	-0.34	0.00
1420 (C–O)	-0.02	0.30	-0.09	-0.02	-0.04	0.19	0.30	0.10
1373 (C–H)	-0.13	-0.55	0.24	0.24	0.04	0.13	-0.16	0.21

OM: organic matter, TOC: total organic carbon, TN: total nitrogen. *, **, *** indicate significance of linear regressions at $P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.001$ level respectively, n.s.: not significant. In all correlations, n=17.

3.4. Discussion

3.4.1. Recovery of soil chemical properties

Four years after fires, the lasting low SOM content is in accordance with the results of Fernández et al. (1997), whereas other works have detected an increase in C content with low fire intensities (Santín et al., 2008; Knicker et al., 2005) due to input of partly charred material or litter from decaying trees. Seventeen years after fires, SOM content fully recovered whatever the wildfire regime. Jonhson and Curtis (2001) suggested that the recovery in SOM content, at long term, could result from organic matter sequestration by polyvalent soil cations and transformation of fresh organic material into recalcitrant forms for soil microbes.

FT-MIR was used for qualitative determination of particular functional groups in SOM. FT-MIR analysis showed that frequent wildfires slowed down the recovery of SOM quality at short term. The most significant changes in FT-MIR spectra were observed for the peaks at 1556 and 1538 cm^{-1}, each one assigned to amide-N and aromatic chemical functions. Knicker et al. (2005) reported that fire resulted in an immediate enrichment of heterocyclic-N from amide-N. In our study, amide-N was not affected by fire (i.e. peak at 1521 cm^{-1}) and thus the higher relative intensity of peaks at 1453, 1556 and 1538 cm^{-1} in frequently and recently burned soils reveal an increased in proportion of aromatic and phenolic structures in SOM composition. Indeed, fire generally induce aromatisation of simple (sugars and lipids) (Tinoco et al., 2006) and complex compounds (humic substances) (Knicker et al., 2005) and production of black carbon from charred vegetation, litter or SOM (González-Pérez et al., 2004). In this study, frequent fires slowed down the recovery in SOM content four years after fire (FB-4yrs). Therefore, it is unlikely that the highest aromaticity after frequent fires resulted only from the aromatisation of simple or complex compounds. Our results are in accordance with Santín et al. (2008) and suggest that the high relative intensity of aromatic structures resulted mainly from the incomplete combustion of the vegetation. Inputs in black carbon from charred plant material may have compensated a decrease in carbon contained in SOM resulting in the fast recovery of total soil organic carbon content (Table 3.2). Moreover, in Mediterranean ecosystems, frequent wildfires lead to the establishment of shrub communities, which are often close to monospecific stands of Cistus sp. (Curt et al., 2009). In the Maures mountain ranges, Schaffhauser (2009) reported higher Cistus sp. coverage (86%) four years

after frequent fires than after infrequent fires (45%). The litter of these species is characterised by high concentration of aromatic secondary metabolites (i.e. phenol, condensed tannins) and high lignin content (Castells et al., 2004). Large inputs of these aromatic compounds in soil through litter or root exudates could have contributed to the high degree of SOM aromaticity four years after frequent fires. Besides an increase in absorbance for the aromatic structures, the most profound decrease for all detected absorbance peaks was observed for asymmetric and symmetric stretching vibrations of methyl and methylene groups. A reduction of the relative abundance of long-chain alkanes and fatty acids is commonly observed and might be explained by possible thermal fragmentation of long-chain molecules (Almendros et al., 1988). At long term, FT-MIR analysis showed a relative increase of aliphatic structures, as expected with an increasing humification. The recovery of the relative intensity of aromatic structures during post-fire decomposition may result either from the increase in the relative intensity of long-chain alkanes and fatty acids, from their chemical and biochemical oxidation (Knicker et al., 2006) and from a loss of the black carbon through erosion process (Rumpel et al., 2006b).

The effects of fire on soil nutrients depend on fire intensity (Marion et al., 1991; Neary et al., 1999; Reich et al., 2001), and on inorganic-N forms and location of nutrient pools (Carreira et al., 1996; Wan et al., 2001). Fire generally immediately increases ammonium (NH_4^+–N) content on soil surface due to combustion of organic matter (Wan et al., 2001). Nitrate (NO_3^-–N) are formed from such ammonium some months after fire as a result of nitrification (Covington and Sachett, 1992). These pulses can persist some years or can be rapidly dissipated through plant assimilation, microbial activities (i.e. immobilisation for both NH_4^+–N and NO_3^-–N and nitrification), strong surface runoff and erosion (Wondzell et al., 2003). Without difference in NH_4^+–N content, the low nitrate content four years after fire could be attributed to an important uptake by post-fire vegetation (Carreira and Niell, 1992) and a low net nitrification activity. The low microbial biomass, low total carbon content and strong changes in organic matter quality can explain the low net nitrification (Table 3.4) which was found to be mainly heterotrophic in Mediterranean ecosystems (Schimel et al., 1984). Phenolic compounds contained in Mediterranean post-fire vegetation such as Cistus sp. (Castells et al., 2004) are also known to increase N-immobilisation (Schimel et al., 1996) and to decrease NO_3^-–N through allelopathic effects on nitrification (MacKenzie et al., 2006).

3.4.2. Recovery of soil microbial properties

Frequent fires stimulated the net nitrification 17 years after the last fire (FB-17yrs). Microbial biomass, organic matter content and quality completely recovered 17 years after the frequent and infrequent fires (FB-17yrs and IB-17yrs, respectively) and thus, cannot explain difference in net nitrification between frequent and infrequent regimes. We suggest that frequently burned soils could contain more charcoal than infrequently burned soils. Charcoal adsorption of organic compounds is one possible mechanism which influences nitrification (DeLuca et al., 2006). Charcoal may have resulted in adsorption of phenolic compounds reducing the presence of factors inhibitory to nitrification (White, 1994) or may reduce the presence of C compounds that might otherwise stimulate immobilisation (Schimel et al., 1996). Moreover, establishment of dense plant covers 17 years after infrequent fire could lead to high plant uptake that would maintain nitrate content below to the unburned level.

Biolog® system was successful in differentiating soil samples based on C-substrate utilisation profiles. In all not burned soils for 4 years, microbial communities used more intensively a great number of substrates reflecting a lower catabolic evenness. These substrates consisted in some N-containing and complex substrates such as aromatics and polymers. A change in C-substrate utilisation profiles was also found by D'Ascoli et al. (2005) after fire in Mediterranean region and was expected to result from changes in SOM quality. The strong co-structure between C-substrate utilisation profiles and FT-MIR data indicated that chemical functions of SOM, especially for recalcitrant forms such as aromatic, control the recovery of C-substrate utilisation profiles. The low nitrate content in not burned soils for 4 years, concomitant with the high SOM aromaticity suggest an increase in microbial demand of nitrogen and preferential utilisation of N-containing compounds. Indeed, Orwin et al. (2005) reported that the addition of complex compounds to a grassland soil increased the use of N-containing amino acids. They concluded that more enzymes were required for the decomposition of more complex C compounds, which resulted in greater microbial N demand. The weaker co-structure between C-substrate utilisation profiles and FT-MIR data in infrequently burned soils (IB-17yrs), suggest that chemical functions of SOM is less implicated in the recovery in C-substrate utilisation profiles at the long term. Surprisingly, 17 years after fire, C-substrate utilisation profiles completely recovered only for frequently burned soils (FB-17yrs). The complete recovery in net nitrification and thus in nitrate content could result in the decrease of N-containing compound utilisation. This is consistent with

Cookson et al. (2008) who found that the relative utilisation of amino acids tended to decrease when NO_3^-–N content increases.

Metabolic profiles obtained using the Biolog plates reflect only the potential of the culturable portion of the soil microbial community which responds to a various C-substrate, whereas enzyme activities reflect the potential microbial metabolism in situ and are intrinsic parts of the dynamic of nutrient cycling. Our results showed, four years after fire, an increase in activities of both the FDAse and the substrate-specific β-glucosidase. FDAse activity is widely accepted as a measure of total soil microbial activity (Adam and Duncan, 2001). Indeed, FDA is a non-specific substrate used to assay hydrolytic activity of a broad range of hydrolases (e.g. esterases, proteases, lipases, cutinases). Previous studies have reported that fire generally decreases at short term many hydrolase activities such as deaminase, invertase, β-glucosidase and alkaline phosphomonoesterase (Ajwa et al., 1999; Boerner et al., 2000; Boerner and Brinkman, 2003). Nutrient depletion, SOM alteration and microbial biomass loss after fire have been proposed to explain the decrease in hydrolase activities (Hernández et al., 1997). However, we showed that a decrease in microbial biomass is not necessarily accompanied by a comparable decrease in FDAse activity. β-Glucosidase which belongs to the pool of hydrolases is an enzyme involved in the enzymatic degradation of cellulose. It catalyses the cleavage of cellobiose and, therefore, regulates the supply of a high energy source for heterotrophic micro-organisms. The increase in β-Glucosidase is consistent with the findings of Fioretto et al. (2009) in early stages of post-fire chronosequence. Our study highlights that frequent burnings did not amplify this effect nor alter their recovery in the long term. However, the low microbial biomass alone could not be responsible for the high β-glucosidase activities after fire. According to Eivazi and Tabatabai (1988), β-glucosidases are produced not only by soil micro-organisms but also by plants. High plant density measured in the first few years after fire in our sites (Curt et al., 2009) may be responsible for the high β-glucosidase activity. According to this trend, Garcia et al. (2002) showed a reduction in β-glucosidase activity attributed to a decline in plant cover density.

Acid and alkaline phosphomonoesterases are repressible hydrolases which reflect the specific phosphorus-demand of microbial biomass and plants (Chen et al., 2003). They are involved in the mineralisation of soil organic phosphorus. Seventeen years after infrequent and frequent fires, the complete recovery of soil organic matter content coupled with a probable strong microbial biomass demand may explain the recovery of these enzyme activities (Boerner and Brinkman, 2003). However, available phosphorus was not affected by wildfire regimes. This result could indicate either an immediate sequestration of phosphorus

to Al-Fe oxides in acid soils (Certini, 2005) or high plant uptake (Saura-Mas and Lloret, 2009).

Phenol oxidase activity was lower four years and seventeen years in frequently burned soils. Artz et al. (2009) have shown a similar decrease of this activity after fire. This is in opposition with the hypothesis that fire, by decreasing total available N and easily decomposable C-sources (i.e. aliphatic structures), would increase the activity of phenol oxidase implicated in decomposition of SOM recalcitrant fractions (Boerner and Brinkman, 2003). Allison and Vitousek (2005) suggested that resource limitation can affect microbial enzyme production. Moreover, Sinsabaugh et al. (1993) found that phenol oxidase activities are primarily regulated by substrate availability. However, the persistent low phenol oxidase activity after frequent fires cannot be explained only by the resource depletion after fire. In our study, this enzyme activity completely recovered 4 years after infrequent fire regime whereas a decrease in resource availability was measured. Fungi are known to be more sensitive to fire than bacteria (Pietikäinen and Fritze, 1995) and less resilient (Hamman et al., 2007). Moreover, they are the main producers of phenol oxidase enzymes (Baldrian, 2006). Frequent fires may have changed the composition (Artz et al., 2009) and biomass (Campbell et al., 2008) of fungi community resulting in a decrease of oxidative activities. Measurement of enzyme activities, especially for phenol oxidase show great spatio-temporal variation (Sinsabaugh, 2010) and our results should be completed by the study of seasonal variation on microbial recovery.

5. Conclusion

In the current context of increase in the number and size of wildfires in all Mediterranean regions, forest management requires an effective assessment of the recovery of soil biological and chemical quality after frequent fires. We have attempted to assess both short-term and long-term changes in the soil chemical and microbial properties by sampling soils along a fire chronosequence. Our results demonstrate that frequent wildfires slowed down recovery at short term of SOM quality and nutrient availability, probably mediated by dense coverage of shrubland species. Both low quantity and low quality (i.e. high percentage of aromatic and phenolic organic forms) of soil organic matter were found to be primary limiting factors of the soil microbial recovery four years after fire. Our study has showed that frequent wildfires can allow recovery of net nitrification and nitrate content, resulting in a

recovery of C-substrate utilisation capabilities of microbial communities at long term. However, frequent wildfires slowed down the recovery of hydrolytic enzyme pool (i.e. FDA hydrolases) and phenol oxidase activity, both involved in soil C dynamic. Results from this study suggest therefore that 4 fires in 50 years is a fire frequency threshold beyond which soil quality and its services may be endangered. An enrichment of soil with labile organic matter could be a valuable rehabilitation technique to improve soil resource availability, restore microbial properties at short term and avoid the effects of frequent wildfires at long term.

Acknowledgements

This study was part of the IRISE project (http://irise.mediasfrance.org/) funded by the European Union, Forest Focus Regulation (No 2152/2003), the French Ministry of Agriculture and Fisheries and ECCOREV Research Federation. Financial support to R. Guénon was provided by the French Agency for Environment and Energy Management (ADEME) and Region Provence-Alpes-Côte d'Azur. Authors are grateful to F. Ruaudel, M. Carrara, A. Bourguiba for their technical assistance. We are very grateful to Mrs. M. Sweetko and M.-L. Guénon for their helpful assistance in English language.

Chapitre 4

ÉQUILIBRE ENTRE HISTOIRE D'INCENDIES ET LES PROPRIÉTÉS DU SOL : RECHERCHE DU POINT DE RUPTURE ET DES ÉCOSYSTÈMES DE RÉFÉRENCE

Ce chapitre 4 correspond à un article soumis pour publication dans la revue *Applied Soil Ecology* : Guénon R., Vennetier M., Dupuy N., Ziarelli F., Gros R. 'Soil organic matter quality and microbial catabolic functions along a gradient of wildfire history in a Mediterranean ecosystem''.

Abstract

The principal aim of this research was to determine the influence of an increasing wildfire history on the recovery at short and long term of soil organic matter (SOM) composition and microbial properties. The contemporary wildfire events (since 1950) were recorded for 27 plots located on the siliceous part of the French Mediterranean region (Maures mountain ranges). A wildfire history index was built, tested and calculated in order to display numerical values representative of the different wildfire history parameters (i.e. number of fires, time since fire and mean fire interval). Microbial basal respiration and biomass were analysed as well as intensity of the use of 31 C-substrates, catabolic diversity and C-substrates utilisation profiles. Furthermore, a qualitative characterisation of the SOM was carried out by solid state 13C NMR. Potential drivers of the microbial recovery were identified by studying the relationships between microbial activities and chemical functions of SOM. Our results showed that fire histories resulting in considerable losses or alterations of SOM, such as recent or close fires, decreased the microbial catabolic evenness. This could be attributed to a preferential utilisation of N-containing compounds and complex substrates such as aromatic and polymers reflecting a greater N microbial demand and a selection of specific catabolic functions. Moreover, a large number of fires (4 fires in 57 years compared to 1-2) resulted in lasting degradation of the relative intensity of methyl C function in polymethylene, O-Alkyl C, aromatic C and phenolic C functions inducing a slow-down in recovery of microbial properties. These results also confirm our hypothesis that some chemical functions of SOM can be in equilibrium with wildfire history. Finally, this research demonstrates that FT-NIR analysis can be used as a valuable tool to assess both the wildfire history and the vulnerability of soil quality to shifts in historical fire regimes.

Keywords: Fire recurrence, recovery, Biolog, catabolic evenness, ^{13}C NMR, FT-NIR spectroscopy.

4.1. Introduction

Shifts in historical fire regimes have been observed both in eastern coast of the Iberian Peninsula and the southern French Mediterranean area (Pausas et al., 2004; Curt et al., 2009). The abandonment of agricultural lands from the late '60s, resulting in the closure of open areas, accentuated by a climate of drought, increased the size of fires, and thus locally the fire frequency. Repeated burnings progressively impoverish soils in organic matter and nutrients (Reich et al., 2001; Boerner and Brinkman, 2003) to such a point that soil microbial communities and their mineralising activities may be altered on a long-term. In spite of the fact that fires reduce competition in communities in the first regenerative phases (Vilà and Sardans, 1999), shorter periods to recover nutrients through microbial mineralisation, may lead in the long term to a reduction in site productivity and to a loss of ecosystem resilience.

Cumulative effects of fires are evidenced at plant community level (Curt et al., 2009). Soils studies have focused on the effects of a single wildfire on short-term nutrient and SOM dynamics (Carreira and Niells, 1992; Knicker et al., 2005; Knicker, 2007) and depletion of soil microbial biomass or changes in microbial catabolic diversity (Hernández et al., 1997; D'Ascoli et al., 2005; Zhou et al., 2009). The stability of soil microbial communities and the ability of their activities to recover may depend on nutrient availability (Moore et al., 1993) which is directly linked to both SOM content and quality remaining after disturbance or brought by the vegetation (De Angelis et al., 1989; Hart et al., 2005). The degree of change in SOM depends on (i) fire regime factors such as intensity, duration and recurrence (Flannigan et al., 2000 ; Cécillon et al., 2009), (ii) initial soil chemical and physical properties (Knicker, 2007), and (iii) local conditions such as vegetation composition and topography (Certini et al., 2005). If cumulative effects of repeated prescribed fires on microbial activities were evidenced (Reich et al., 2001; Boerner and Brinkman, 2003), to date little emphasis has been placed on quantifying the trends in long-term recovery of soil organic matter (SOM) quality and microbial properties with an increase in wildfire frequency. Moreover, a better understanding of relationships at the long term between wildfire history and soil quality can have direct implications in choice of land management options (Scheffer and Carpenter, 2003).

In this study, soil microbial properties were hypothesised to be in equilibrium with wildfire history, up to a limit which depends on number of fires, time since fire and also fire interval. A high fire frequency (4 fires in 57 years compared to 1-2), a short time since fire (4

years compared to 17 or 57 years) and/or a short mean fire interval (< 12 years compared to >20 years) would cause lasting degradation of the soil organic matter resulting in a breakdown of microbial relationship to wildfire and a change in trends of recovery. Moreover, the quality of SOM is expected to be primary driving factors by which the vegetation influences soil microbial properties (Hart et al., 2005). Our objectives were (i) to assess the effect of various wildfire histories on the soil organic matter quality (i.e. chemical functions assessed by solid state ^{13}C-NMR spectroscopy) and microbial properties (i.e. catabolic level physiological profiles, biomass and basal respiration), (ii) to identify the wildfire history threshold resulting in an abrupt change of soil properties and (iii) to identify the chemical functions of SOM better related to the microbial properties. Finally, we aimed to assess the potential of Fourier Transform Near Infra-Red (FT-NIR) spectroscopy for predicting soil microbial properties and wildfire history parameters. FT-NIR spectroscopy is a rapid and simple analytical technique involving diffuse reflectance measurement in the NIR region (4500-10000 cm^{-1}). NIR analysis is now widely used to predict soil chemical and biological properties (e.g. Brunet et al., 2007; Cécillon et al., 2008) and specific soil quality indices (Cécillon et al., 2009). So, FT-NIR spectroscopy could be a valuable tool for wildfire history and soil characterisation and management. A wildfire history index was built, tested and calculated in order to display numerical values representative of the different wildfire history parameters (i.e. number of fires, time since fire and mean fire interval) that affects the soils properties and their recovery.

4.2. Materials and methods

4.2.1. Study area

The study was conducted in part of the Maures mountain range (Var, southern France, 43°20' N and 6°37' E). The region is characterised by a Mediterranean climate with dry, hot summers and wet, temperate winters. The mean annual precipitation is 920 mm (1962-2003). The average monthly temperature varies from 7°C in January to 22°C in July, with mean annual temperatures close to 14°C. The study area (90 km2) presents a range of altitude from 100 to 400 m above sea level. The mother rock is a gneiss migmatitic (crystalline siliceous rock) composed of ferro-magnesian minerals (micas, amphibols). The loamy sand soils are classified as dystric Leptosol and dystric Cambisol (IUSS Working Group WRB, 2006). The

study area is characterised by a heterogeneous mosaic of Mediterranean forest ecosystems generated by various wildfire frequencies. At the early stage of succession (i.e. following forest fires), plant communities are dominated by herbaceous and fast growing species such as Cistus monspeliensis L., Calycotome spinosa L., Erica arborea L. and Quercus suber L. At the later successional stage (i.e. with no fire for at least 57 years), closed forests are dominated by a tree stratum of Quercus suber L., Quercus ilex and Pinus pinaster Aiton subsp. pinaster.

4.2.2. Wildfire history mapping, soil sampling and wildfire history index

The burned surfaces were mapped using a series of aerial pictures spanning a 56-year period from 1950 to 2006 and public fire databases. This map was then used to choose twenty seven sampling plots. Each sampling plot (300-400 m^2 in size) is characterised by homogenous vegetation structure and cork oak as a common species to all. All sampling plots were similar in elevation (60-360 a.s.l.), topography and geological parent material. Geographic location of the plots, together with soil and vegetation characteristics, is presented in Table 4.1. The sampling plots were selected to obtain a large range of wildfire history defined as the number of fires, the interval between each fire and the interval between the last fire and a given sampling date. The wildfire history parameters of each sampling plot are presented in Table 4.2.

Firstly, seventeen plots were sampled in January 2007 to study relationships between soil microbial activities, soil organic matter quality and fire frequency. Then, in February 2008, in January 2009 and finally in June 2009, three other sets of respectively 24, 12 and 12 plots were sampled to assess the predictability of soil microbial properties by FT-NIR spectroscopy over a maximum range of wildfire history. For each plot, after removing the thin litter layer from the soil surface, five bulk soil subsamples of the surface layer (0-5 cm depth), each 20×20 cm in size, were randomly cored and pooled. The composite soil samples were sieved (2 mm mesh size), homogeneously mixed and kept at 4°C until analysed for microbial properties or air-dried prior ^{13}C NMR and FT-NIR analyses.

Table 4.1: Plots sampled in this study, together with their geographic location and some soil and vegetation characteristics

Sample code	Latitude/longitude	Altitude/ m.a.s.l	Slope/ %	Textural classification	Soil type (WRB)	Vegetation structure	Dominant species
1	43°19'46"N/6°34'03"E	80	15.9	Sandy Loam	Dystric Cambisol	Closed oak forest	*Quercus suber, Quercus ilex, Quercus pubescens*
2	43°20'12"N/6°34'19"E	100	26.8				
3	43°20'09"N/6°34'15"E	90	26.7				
4	43°20'07"N/6°34'07"E	60	7.8				
5	43°26'26"N/6'35'49"E	120	11.3				
6	43°22'06"N/6°36'06"E	260	26.2	Sandy Loam	Dystric Leptosol	Cork oak with high maquis	*Quercus suber, Erica arborea, Arbustus unedo, Cistus monspeliensis, Calycotome spinosa*
7	43°25'46"N/6°39'07"E	100	19.0				
8	43°25'31"N/6°39'03"E	100	27.0				
9	43°22'15"N/6°35'37"E	300	28.1				
10	43°19'23"N/6°35'47"E	60	11.0				
11	43°18'53"N/6°36'21"E	170	44.5	Sandy Loam	Dystric Leptosol	Cork oak with high maquis	*Quercus suber, Arbustus unedo, Erica arborea, Calycotome spinosa, Laburnum vulgare*
12	43°18'45"N/6°36'08"E	200	22.8				
13	43°22'27"N/6°36'29"E	320	38.2				
14	43°22'32"N/6°36'27"E	360	21.2				
15	43°19'23"N/6°40'15"E	100	20.7	Sandy Loam	Dystric Leptosol	Low maquis under Cork oak	*Cistus monspeliensis, Calycotome spinosa, Cistus salviifolius, Erica arborea, Quercus suber*
16	43°20'51"N/6°37'26"E	280	41.7				
17	43°20'51"N/6°37'26"E	280	30.9				
18	43°21'06"N/6°36'57"E	270	25.9				
19	43°22'04"N/6°40'39"E	160	27.0				
20	43°22'01"N/6°35'12"E	120	33.7	Sandy Loam	Dystric Leptosol	Low maquis under sparse Cork oak	*Cistus salviifolius, Cistus monspeliensis, Calycotome spinosa, Quercus Suber*
21	43°22'06"N/6°35'02"E	130	17.2				
22	43°21'57"N/6°35'03"E	100	22.3	Loamy Sand			
23	43°21'05"N/6°32'39"E	180	28.6				
24	43°21'06"N/6°32'39"E	180	30				
25	43°18'27"N/6°36'02"E	220	12.0	Loamy Sand	Dystric Leptosol	Charred cork oak, sparse herbaceous and resprouts	*Quercus suber, Cistus monspeliensis, Bituminnella bituminosa, Lotus* sp.
26	43°18'32"N/6°35'57"E	280	30.0				
27	43°18'34"N/6°35'24"E	220	18.0				

Table 4.2: Wildfire history parameters of the plots sampled in 2007, 2008 and 2009

Sample code	Sampling year		2007			2008			2009		
	Wildfire history parameters	NF	TSF	MFI	WHI	TSF	MFI	WHI	TSF	MFI	WHI
	Date of fire events										
1	Not burned since 1950	1	57	57	0.132	58	58	0.131	59	59	0.130
2	Not burned since 1950	1	57	57	0.132	58	58	0.131	59	59	0.130
3	Not burned since 1950	1	57	57	0.132	58	58	0.131	59	59	0.130
4	Not burned since 1950	1	57	57	0.132	58	58	0.131			
5	Not burned since 1950	1	57	57	0.132	58	58	0.131			
6	1982	1	25	28.5	0.200	26	29	0.196			
7	1990	1	17	28.5	0.244	18	29	0.236			
8	1982/ 1959	2				26	24.5	0.243			
9	1990/ 1962	2				18	23	0.278			
10	1990/ 1964	2	17	21.5	0.286	18	22	0.280			
11	1990/ 1982/ 1978/ 1962	4	17	11.25	0.394	18	11.5	0.386	19	11.75	0.378
12	1990/ 1982/ 1978/ 1962	4	17	11.25	0.394	18	11.5	0.386	19	11.75	0.378
13	1990/ 1985/ 1978/ 1964	4	17	10.75	0.403	18	11	0.394	19	11.25	0.386
14	1990/ 1985/ 1978/ 1964	4				18	11	0.394			
15	2003/ 1962	2	4	22.5	0.522	5	23	0.471			
16	2003/ 1962	2				5	23	0.471			
17	2003/ 1982	2	4	12.5	0.539	5	13	0.488			
18	2003/ 1982	2	4	12.5	0.539	5	13	0.488			
19	2003/ 1982	2				5	13	0.488			
20	2003/ 1990/ 1970	3				5	12.7	0.506			
21	2003/ 1990/ 1970	3				5	12.7	0.506			
22	2003/ 1990/ 1982/ 1959	4	4	12	0.608	5	12.3	0.561	6	12.5	0.526
23	2003/ 1990/ 1982/ 1959	4	4	12	0.608	5	12.3	0.561	6	12.5	0.526
24	2003/ 1990/ 1982/ 1959	4	4	12	0.608	5	12.3	0.561	6	12.5	0.526
25	2007/ 1985/ 1970/ 1964	4							2	11.8	0.768
26	2007/ 1985/ 1970/ 1964	4							2	11.8	0.768
27	2007/ 1985/ 1978/ 1964	4							2	11.8	0.772

NF: Number of fire, TSF: Time since fire, MFI: Mean fire interval, WHI: Wildfire history index.

A Wildfire History Index (WHI) was required to analyse properly the relationships between wildfire parameters (i.e. number of fires, interval between fires and sampling time) and the recovery of soil properties. WHI was designed to include the number of fires, the time between the last fire and soil measurements, and the time interval between fires. WHI was also parameterised (i) to increase with the number of fires, (ii) to decrease with the time since the last fire and, more generally (iii) to give more weight to recent fires than to old fires. WHI was calculated for all soils (Table 4.2) according to the following equation:

$$\mathrm{WHI} = \sqrt{\sum_{i=1}^{n} \frac{1}{Ym - Yi}}$$

where n is the total number of fires, Ym is the sampling year and Y_i the year of *i*th fire. The square root of this sum is applied to reduce the variability of the values for recent fires.

4.2.3. Soil organic matter content and quality by solid-state ^{13}C CP/MAS NMR

Organic matter content of soils collected in 2007 was obtained by loss on ignition (16h, 550°C). Prior to being analysed only for NMR, these soil samples were treated with a mixture of chlorhydric acid (1N) and fluorhydric acid (10%) (v:v) using the procedure of Gélinas et al. (2001). This pre-treatment was used to suppress paramagnetic elements which interfere with the NMR signal. The solid-state ^{13}C NMR spectra were obtained on a Bruker Avance-400 MHz NMR spectrometer operating at a ^{13}C resonance frequency of 106 MHz and using a commercial Bruker double-bearing probe. About 100 mg of samples were placed in zirconium dioxide rotors of 4-mm outer diameter and spun at the Magic Angle Spinning (MAS) rate of 10 kHz. The Cross Polarisation (CP) technique (Schaefer and Stejskal, 1976) was applied with a ramped ^{1}H-pulse starting at 100 % power and decreasing to 50 % during contact time (2 ms) in order to circumvent Hartmann-Hahn mismatches (Cook *et al.*, 1996). To improve resolution, a dipolar decoupling GT8 pulse sequence (Gerbaud *et al.*, 2003) was applied during the acquisition time. The experiments were performed at ambient temperature and 20K scans were accumulated using a delay of 2.5s, for an experimental time of 14h. The ^{13}C chemical shifts were referenced to tetramethylsilane and calibrated with glycine carbonyl signal, set at 176.5 ppm.

The ^{13}C NMR spectra were divided into 7 chemical shift regions according to Mathers et al. (2003): i.e. alkyl C (0-45 ppm), methoxyl C (45-60 ppm), *O*-alkyl C (60-92 ppm), di-*O*-alkyl C (92-112 ppm), aromatic C (112-142 ppm), phenolic C (142-160 ppm) and carboxyl C (160-185 ppm). In some instances, it was necessary to divide some chemical shift regions or sum certain peaks. The alkyl C region is characteristic of carbons in waxes and cutins, as well as aminoacid side-chain carbons (Forte *et al.*, 2006). This region was divided into two areas: i.e. terminal methyl groups in short-chain methylene with a culminating peak at 25 ppm and C in long-chain polymethylene composed by 2 peaks (30+33 ppm). The *O*-alkyl C region was composed by peaks (or shoulders) at 62 and 83 ppm (C-6 and C-4 of amorphous cellulose) and peaks at 66 and 89 ppm (C-6 and C-4 of crystalline cellulose) and the greatest peak at 73 ppm assigned to cellulose (C_3 and C_5 of hexoses), hemicellulose (C_3 and C_5 of hexoses and C_2 and C_3 pentoses) and lignin (C_α, C_β and C_γ) (Preston *et al.*, 1997; Kögel-Knabner, 2002). The di-*O*-alkyl C region could be attributed to anomeric C-1 (Wilson *et al.*, 1983) and also to C-2 of cycles and C-6 syringyl units (Hatcher, 1987). The aromatic C region composed of two peaks (116+133 ppm) was fully conserved and attributed to lignin and also aromatic amino acid of protein, olefin and black carbon (Preston *et al.*, 1997; DeLuca *et al.*, 2006). The phenolic C region composed of two peaks (at 147 and 153 ppm) was conserved separately. The peak at 147 ppm can be attributed to C-3 and C-4 of guaiacyl units of the lignin and the peak at 153 ppm to C-3 and C-5 of syringyl units (Knicker et al., 2005). The Carboxyl C region was attributed to carboxyl and amide functions (Preston *et al.*, 1997; Kögel-Knabner, 2002) present in tannins, hemicellulose, cutins, suberins and proteins (Forte *et al.*, 2006).

A deconvolution of each spectrum was performed on DmFit (Massiot *et al.*, 2002). Software Dmfit 2005 was used to determine the relative intensity of each selected region or peak (Massiot et al., 2002). The alkyl C / *O*-Alkyl C *ratio* was calculated as follow.

$$\text{Alkyl C} / O - \text{Alkyl C} = \frac{\text{Alkyl C area intensity } (0 - 45 \text{ ppm})}{O - \text{alkyl C area intensity } (45 - 112 \text{ ppm})}$$

4.2.4. Soil microbial properties

The community-level physiological profiles (CLPPs) and microbial catabolic diversity were determined with BIOLOG® EcoPlates (BIOLOG Inc., Hayward, CA) using a procedure adapted from Garland and Mills (1991). We purposely did not adjust the inoculum as we

considered the total microbial number as an inherent characteristic of microbial communities of each plot. Briefly, 5 g (dry weight equivalent) of sub-sample was added to 50 ml of sterile 0.1 % Na-pyrophosphate solution (pH 7), then shaken (20 min) and finally centrifuged (500 *g*, 10 min, 4 °C) to obtain a 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. The plates were incubated at 25 °C for 6 days and the absorbance was read three times a day (490 nm) using a microplate reader (Metertech P960, Avantec, France). Microbial C-use intensity was assessed as the rate of average well colour development (AWCD) calculated as follows: AWCD =Σ ODi/31, where ODi is the optical density for each well in the mid-exponential growth phase (i.e. after 72h). Absorbance values for the wells with C sources were blanked against the control well. The incubation time resulting in an AWCD = 0.5 absorbance unit ($T_{0.5}$) was calculated for each samples and used to standardise the optical density of each C-containing wells (Garland and Mills, 1991). Catabolic diversity (CD) was calculated using the reciprocal Simpson index 1/D (Simpson, 1949): $D=\Sigma p_i^2$, where p_i is the relative AWCD of the ith C-substrate.

Basal respiration (BR) was measured to assess the ecophysiological state of microbial communities of soil samples collected in 2007, 2008 and 2009 (N=65). Ten g (dry weight equivalent) of soil were placed in 117 ml glass jars and then pre-incubated 4 days at 22°C to allow microbial respiration to restart. The glass jars were then closed with hermetic rubber septa, and incubated for 4 hours (22°C). After incubation, 1 ml of air was sampled in the head space with a syringe and injected into a gas chromatograph (Chrompack CHROM 3 – CP 9001) to analyse CO_2 production. The gas chromatograph was equipped with a thermal conductivity detector and a packed column (Porapack). The carrier gas helium flow was regulated at 60 ml h^{-1}. 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) was estimated using substrate-induced respiration (SIR) rates (Anderson and Domsch, 1978). Ten grams (dry weight equivalent) of sub-samples were placed in 117 ml glass jars and amended with powdered glucose (1000 µg C g^{-1} soil). One ml of air was sampled in the head space with a syringe and injected into the gas chromatograph to analyse CO_2 production (see above). SIR rates were converted into MB using equations given by Beare *et al.* (1990).

4.2.5. Fourier Transform Near Infrared spectroscopy

For each soil sample (N=65), Fourier Transform Near-Infrared (FT-NIR) spectra were recorded in reflectance with an integration sphere using a Nicolet Antaris spectrometer interfaced to a personal computer. All the spectra were computed at 4 cm^{-1} resolution between 4500 and 10000 cm^{-1} using the software Omnic 2.1. Co-addition of symmetrical interferograms on 100 scans was performed for each spectrum. Air was taken as reference for the background spectrum before each sample. NIR spectra depend on the number and type of chemical bonds such as C-H, N-H, S-H, O-H and C=O in the analysed material (Foley et al., 1998). The predictive ability of FT-NIR for microbial properties and fire regime parameters was performed by partial least squares regressions (PLSR) (Tenenhaus, 1998). One PLSR model was built for each dependent variable and using full spectra. To improve PLSR models, pretreatments such as multiplicative scatter correction (MSC), standard normal variate (SNV) or first derivative were applied to the FT-NIR spectra. Firstly, a set of 54 samples was randomly selected and used to establish the model of calibration. This model was constructed on a selection of the most relevant wavelengths obtained by the variable importance of the projection (VIP) method (Cécillon et al., 2008). The optimal factor number, R^2 of calibration model, standard error of calibration (SECV) were computed by full cross validation. The standard errors of calibration and prediction (SECV and SEP) were analysed regarding to the standard errors of the measure (SEM). The response values of the 11 remaining samples were thus predicted using the calibration model. The evaluation of the prediction performance was estimated by the R^2 of the prediction model, the standard error of prediction (SEP) and the residual predictive deviation (RPD). RPD is the ratio of the standard deviation of measured data to SEP.

4.2.6. Statistical analysis

Relationships between wildfire history index and microbial properties or ^{13}C NMR chemical functions of only soils sampled in January 2007 were analysed by linear and non-linear regression models (quadratic, inverse and piecewise) using respectively Statistica 6.0 or SegReg program (Oosterbaan, 1994). Model selection was based on the F-test criterion. Models with the greatest F-values are considered best-fit (Knell, 2009). Evidence for a threshold response (i.e. a discontinuity) in the changes in soil properties dependently on fire

frequency requires the piecewise regression model to provide the best fit to the data (Radford et al. 2005). In this case, SegReg thus calculated an optimum breakpoint (i.e. with the smallest interval of confidence). Specific relationships between microbial activities and ^{13}C NMR chemical functions were tested using Pearson's correlation coefficients (Statistica 6.0).

We used redundancy analysis (RDA), a constrained form of PCA in which the explanatory axes are constrained to be linear combinations of the explanatory variables. Constrained ordination explicitly links two matrices: one dependent matrix and one explanatory matrix. Both are implied at the stage of the ordination. We used the non-parametric RDA rather than the parametric multivariate ANOVA, because the latter requires multivariate normality and homogeneity of covariance matrices and cannot be used when the number of CLPPs is greater than the number of plots. The RDA followed by a Monte Carlo permutation test (5000 random permutations) were used to determine the statistical significance of the relation between the CLPPs (i.e. dependent variables) and the chemical functions of soil organic matter (SOM) (i.e. explanatory variables). In addition, RDA gives marginal effects which show the variance explained by each environmental variable alone (λ-1). RDA and Monte Carlo permutation tests were performed using CANOCO 4.5 (ter Braak and Smilauer, 2002).

4.3. Results

4.3.1. Wildfire History Index (WHI) parameterisation and computation

Figure 4.1 reports the results of simulations of WHI values by varying the date of the last wildfire event (d on abscissa axis) and using a fixed sampling date (i.e. 2007). A total of eighteen simulations were performed changing fire parameters such as the number of fires (Figure 4.1a), the intervals between fires (Figure 4.1b), and both number of fires and intervals (Figure 4.1c). WHI values, whatever the simulation, increased in an exponential way from recent wildfire (i.e. approximately from 2000). WHI values increased with fire number for each simulation with the same date of the last wildfire (d) (Figure 4.1a). WHI values for a last wildfire in 2000 are 0.35, 0.40, 0.43, 0.46, 0.48 and 0.50 for respectively 1, 2, 3, 4, 5 and 6 fires. Figure 4.1a also shows that WHI values can be higher with low number of fires than

with high number of fires if the date of the last wildfire is recent. WHI values increase with the shorter fire interval for both simulations performed with 3 and 6 fires (Figure 4.1b). For the same date of the last fire, WHI values always increased with the number of fire and the decrease of fire interval (Figure 4.1c). Moreover, the WHI model emphasises more on the time since the last fire than on the fire intervals and the number of fires. The WHI model was thus used to calculate a value of fire frequency for each studied plot. The WHI values varied from 0.13 to 0.78 depending on wildfire history of each plot and sampling date (i.e. 2007, 2008 and 2009) (Table 4.2).

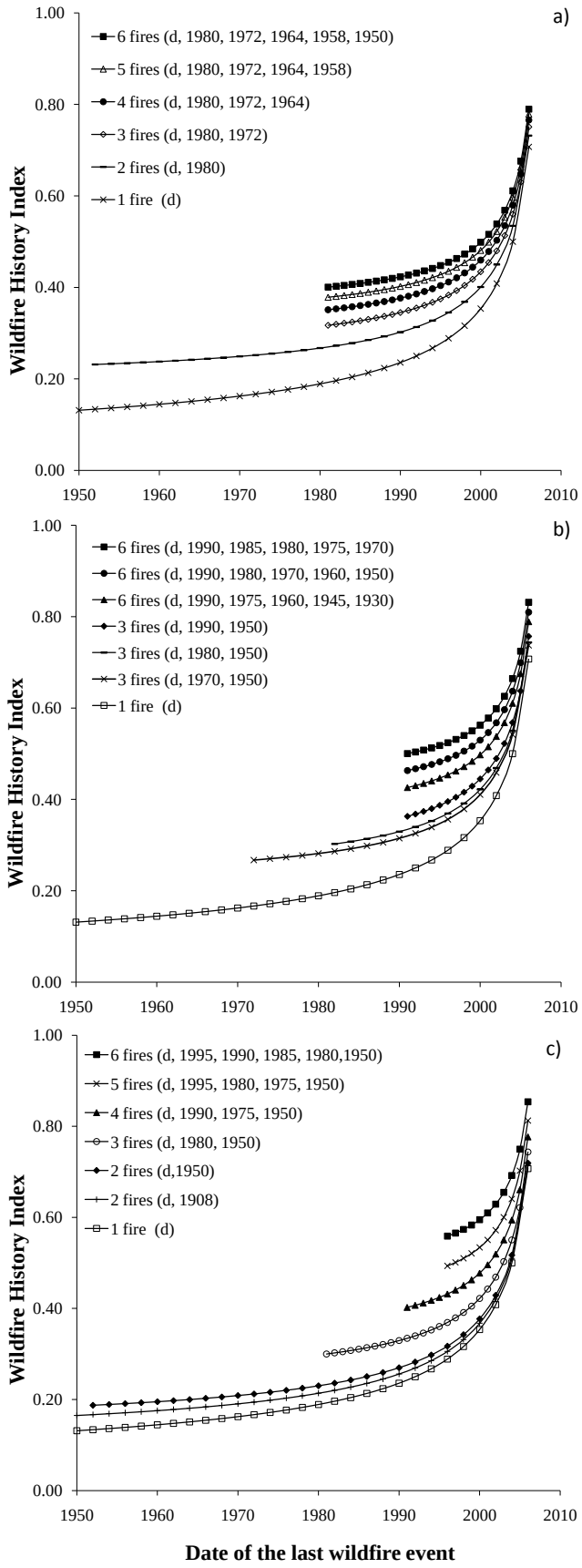


Figure 4.1: Simulations in the wildfire history index values by a) an increase of the number of fires alone, b) a decrease of the fire interval alone, c) both number of fires and fire interval variations.

4.3.2. Soil organic matter content and quality by solid state ^{13}C-NMR spectroscopy

Soil organic matter (SOM) content expressed on a mass basis in recently burned soils, was found significantly lower than both unburned soils since 1950 and 1990 (Figure 2 a). Soils that remained unburnt since at least 1950 displayed a distribution of chemical functions of organic matter in the following order *O*-Alkyl C (37%) >Alkyl C (28%) >Aromatic C (16%) >Carboxyl C (8%) >Methoxyl C (6%) >Phenolic C (4%). Linear and piecewise regressions were the best models found linking the relative intensity of specific chemical functions to the wildfire history index (WHI). Among the two subdivisions of Alkyl C region only methyl functions in polymethylene significantly decreased from a WHI breakpoint at 0.39 (r^2=0.66, p<0.001) (Figure 2c). Methoxyl C region (45-60 ppm) presented a negative linear regression along WHI (r^2=0.43, p<0.05) (Figure 2d). The *O*-alkyl C region (60-92 ppm) presented a negative linear regression along WHI (r^2=0.54, p<0.001) (Figure 2e). The piecewise regression computed on the di-*O*-alkyl C (92-112 ppm) showed 2 constant lines separated by a breakpoint at WHI =0.54 (r^2=0.74, p<0.001) (Figure 2f). This breakpoint separated the relative intensities of di-*O*-alkyl C function of soils burned in 1990 (7% in average) from those burned in 2003 (3% in average). Aromatic C region (112-142 ppm), which accounted for 15% of the total intensity of ^{13}C-NMR spectra for unburned soil, strongly increased from a breakpoint at WHI =0.35 until 30% for high fire frequencies (r^2=0.86, p<0.001) (Figure 2g). The phenolic C peak at 147 ppm showed a rapid decrease from the lowest WHI values until the breakpoint (WHI =0.38) beyond which this relative intensity became constant (r^2=0.81, p<0.001) (Figure 2h). The other phenolic C peak at 153 ppm showed an opposite trend but with a close breakpoint (WHI =0.35, r^2=0.79, p<0.001) (Figure 2i). Moreover, the relative intensities of these two peaks were similar for unburned soils and the strongest differences were recorded for high fire frequencies.

Alkyl C to *O*-alkyl C ratio was calculated to assess changes in organic matter quality in relation to the evolution of WHI. This ratio presented a significant increase (r^2=0.65, p<0.001) from a breakpoint at WHI=0.35 corresponding to an increase up to 44% (Figure 2k).

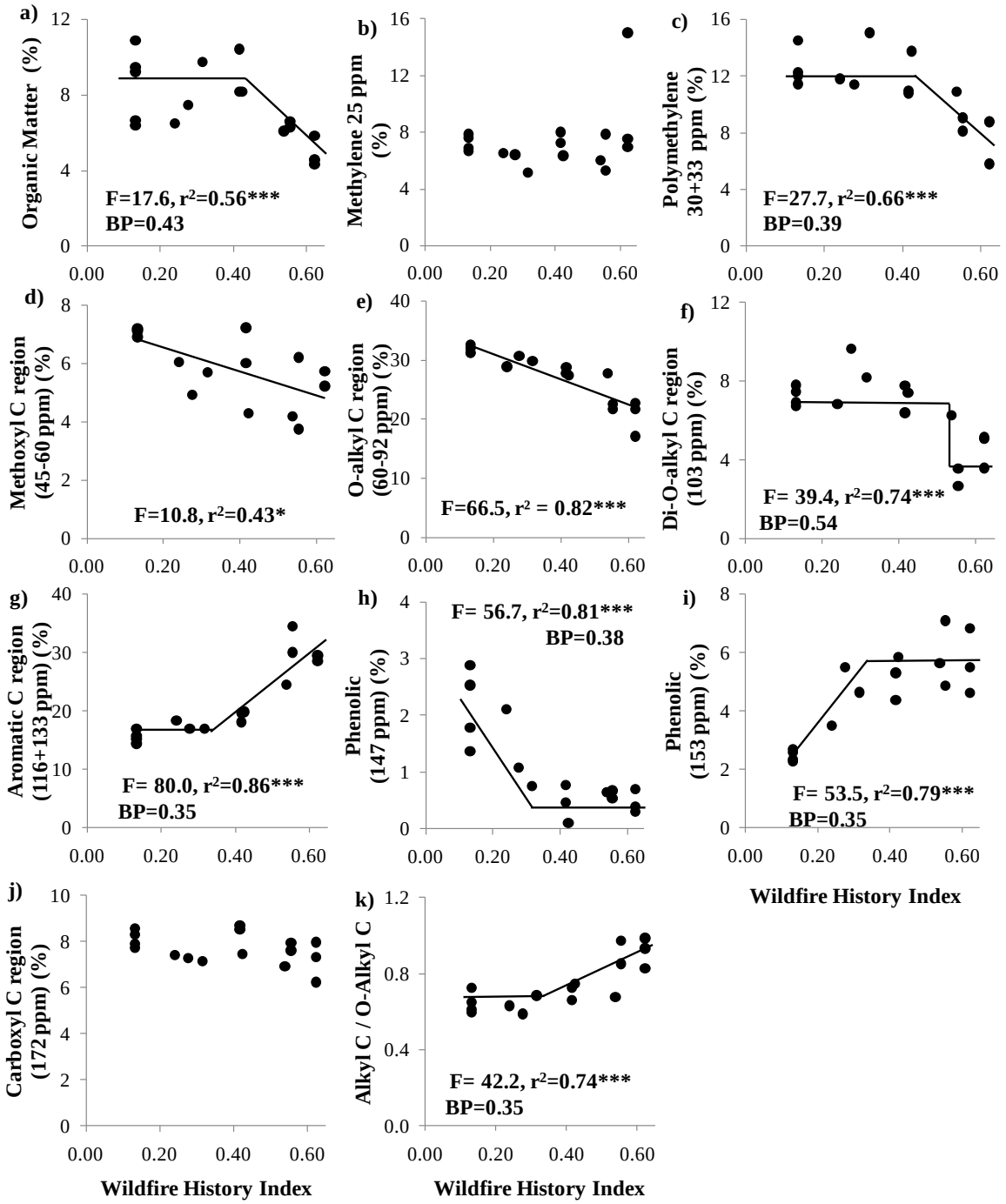


Figure 4.2: Soil organic matter content and relative intensity (%) in the solid-state ^{13}C NMR spectra in relation with wildfire history index. F and R^2 values are reported for significant (*, **, *** for respectively P<0.05, P <0.01 and P<0.001) linear and piecewise regressions (n=17). BP= breakpoint.

4.3.3. Soil microbial properties

Linear or piecewise regressions were the best models found, linking microbial properties to wildfire history index (WHI). Figure 3 shows that the average well colour development (AWCD) was weakly correlated with WHI (r^2= 0.22, p<0.05), while microbial biomass (MB) and catabolic diversity (CD) presented a straightforward linear decrease along WHI (r^2= 0.52, p<0.01 and r^2= 0.68, p<0.001 respectively). Basal respiration (BR) was better related to WHI with significant piecewise regression (r^2=0.64, p<0.001) (Figure 3c). From the breakpoint at WHI=0.42, BR decreased more than 50%.

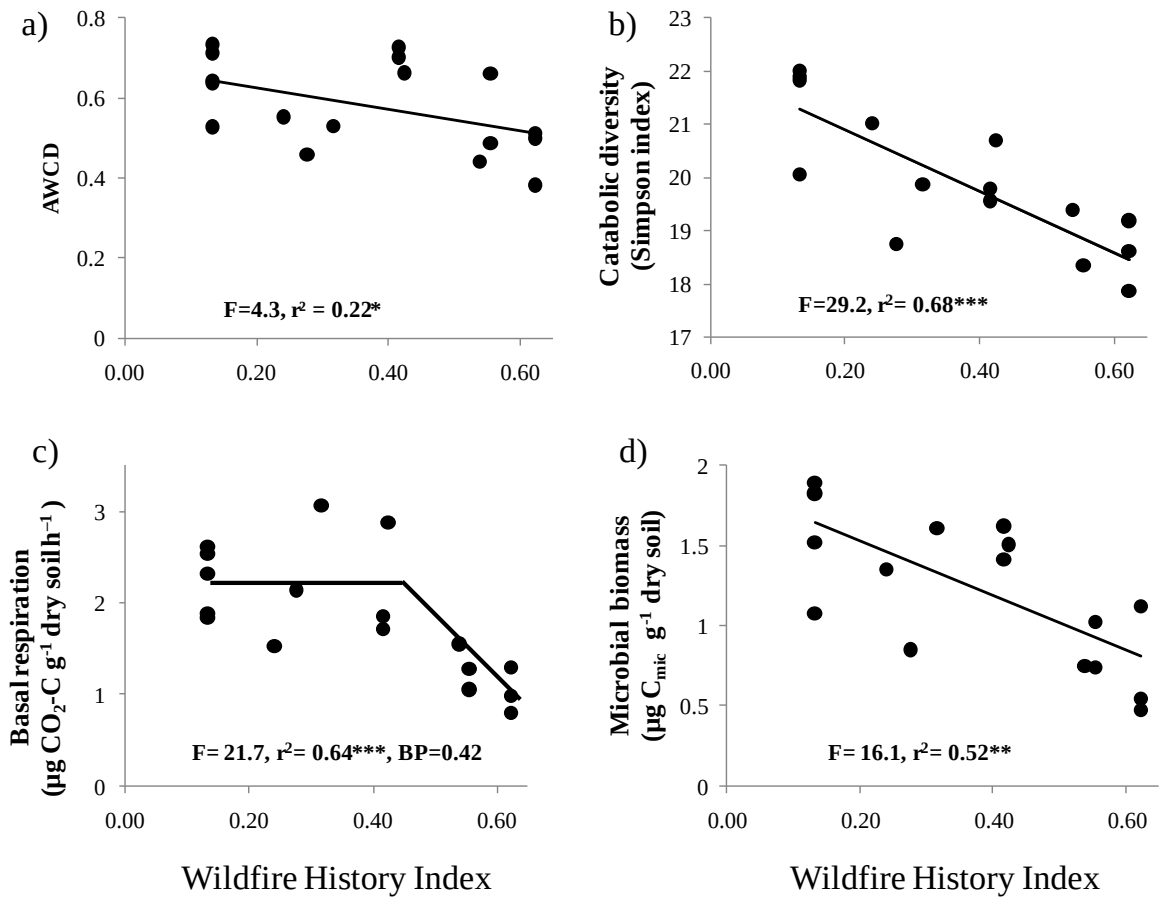


Figure 4.3: Average well colour development (a), microbial catabolic diversity (b), basal respiration (c) and biomass (d) in relation with wildfire history index. F and R^2 values are reported for significant (*, **, *** for respectively P<0.05, P <0.01 and P<0.001) linear and piecewise regressions (n=17). BP= breakpoint.

The first two axes of the RDA ordination tri-plot (Figure 4) explained 32.5% of the total variance in the CLPPs data. Microbial CLPPs for the frequently burned soils (i.e.

positive part of the RDA axis 1) were characterised by a high utilisation of 11 C-substrates (i.e. grey arrows) highly and positively correlated (r>0.5) to CA1 (bold grey arrows in Figure 4).

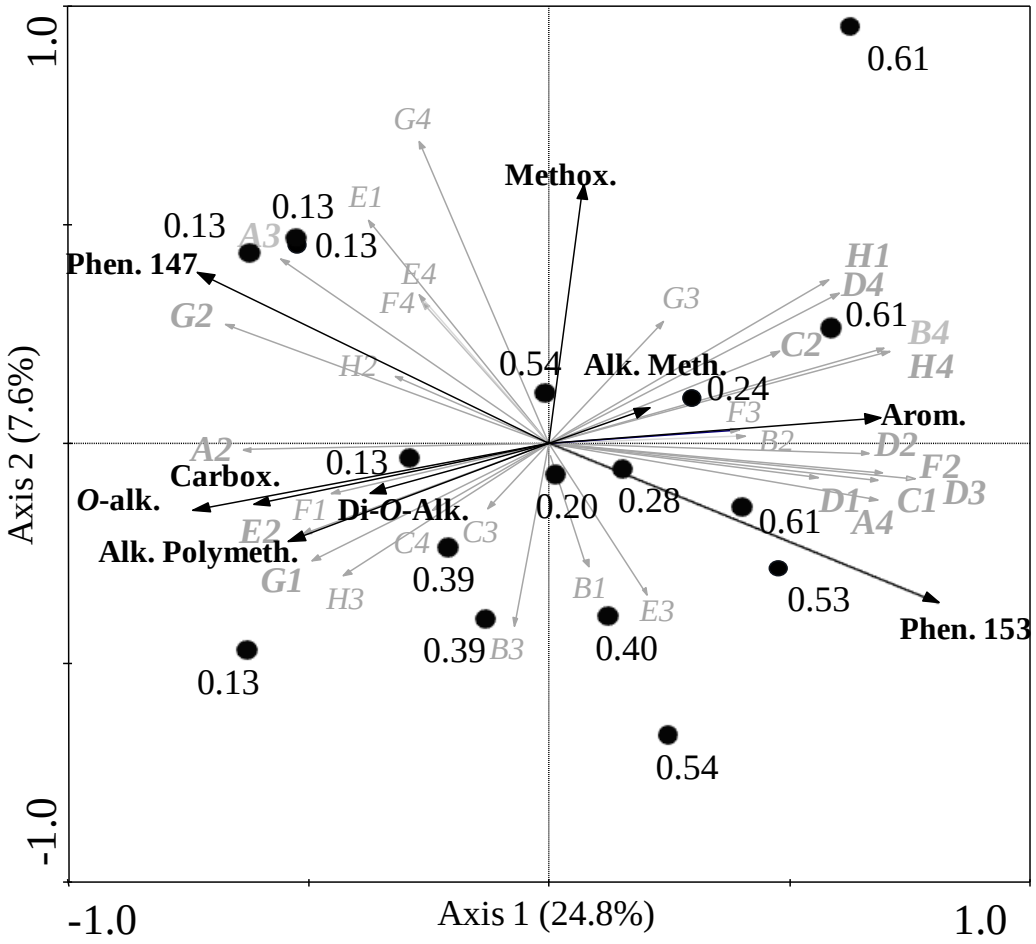


Figure 4.4: RDA tri-plot of microbial catabolic profiles of soils affected by various WHI (black circles), solid-state ^{13}C NMR signals (black arrows) as explanatory variables and C-substrates (grey arrows). *Alk. Meth.: alkyl C in methylene; Alk. Polymeth.: alkyl C in polymethylene; Methox.: methoxyl C, O-Alk.: O-Alkyl C; Di-O-Alk.: Di-O-alkyl C, Arom.: aromatic C, Phen. 147: phenolic C at 147 ppm; Phen. 153: phenolic C at 153 ppm; Carbox.: carboxyl C. A2: β-methyl-D-glucoside ; A3: D-galactonic acid γ-lactone; A4: L-arginine; B1: pyruvic acid methyl ester; B2: D-xylose; B3: D-galacturonic acid; B4: L-asparagine; C1: tween 40; C2: i-erythritol; C3: 2-hydroxy benzoic acid; C4: L-phenylalanine; D1: tween 80; D2: D-mannitol; D3: 4-hydroxybenzoic acid; D4: L-Serine; E1: α-cyclodextrin; E2: N-acetyl-D-glucosamine; E3: γ-hydroxybutyric acid ; E4: L-threonine; F1: glycogen; F2: D-glucosaminic acid; F3: itaconic acid; F4: glycyl-L-glutamic acid; G1: D-cellobiose; G2: glucose-1-phosphate; G3: α-ketobutyric acid; G4: phenylethyl amine; H1: α-D-lactose; H2: D,L α-glycerol phosphate; H3: D-malic acid; H4: putrescine.*

These 11 C-substrates are carboxylic acids, carbohydrates, amines, amino acids and polymers. Among these 11 C-substrates, five are N-containing substrates (i.e. L-Arginine, D-

Glucosaminic acid, L-Asparagine, Putrescine and L-Serine), 3 are complex substrates such as phenolic (i.e. 4-hydroxybenzoic acid), 2 polymers and also 3 carbohydrates. However, only 5 C-substrates were highly and negatively correlated (r>0.5 on CA1) with the ordination of lower fire frequencies (negative part of the RDA axis 1) including 4 substrates containing-glucose-molecule (i.e. β-methyl-D-glucoside, N-acetyl-D-glucosamine, D-cellobiose, glucose-1-phosphate).

4.3.4. Relationships between soil microbial properties and soil organic matter quality (SOM)

Pearson's correlation coefficients between chemical functions of SOM and basal respiration (BR), microbial biomass (MB) and catabolic diversity (CD) are consigned in Table 4.3. In the Alkyl C region (0-45 ppm), only the methyl functions in polymethylene (30+33 ppm) were strongly and positively correlated to BR, MB and CD (P<0.001). Similar correlations were recorded between these microbial properties and the *O*-alkyl C region. On the other side, both aromatic (112-142 ppm) and phenolic (153 ppm) chemical functions were negatively correlated to microbial properties. Surprisingly, CD decreased concomitantly (p<0.001 and p<0.01 respectively) to the phenolic peak at 147 ppm. Nevertheless, the decrease in SOM quality (i.e. increase in Alkyl C / *O*-Alkyl C ratio) was significantly correlated to a decrease in microbial properties (Table 4.3).

The first two axes of the RDA ordination tri-plot (Figure 4.4) accounted for 51.8% of the variance of the CLPPs-SOM relation. The correlations between the CLPPs and SOM on the RDA axis 1 and RDA axis 2 were r=0.97 and r=0.99, respectively. RDA and Monte Carlo permutation test showed that 5 of the 9 chemical functions of SOM (listed in order of decreasing importance) were significantly correlated to CLPPs (marginal effects λ-1) : i.e. phenolic C 147 (λ-1=0.19, p=0.002), phenolic C 153 (λ-1=0.16, P=0.008), *O*-Alkyl C (λ-1=0.16, p=0.006), aromatic C (λ-1=0.14, p=0.001), carboxyl C (λ-1=0.12, p=0.028) and methyl C in polymethylene (λ-1=0.1, p=0.05). The ordination tri-plot showed that microbial CLPPs of soils frequently burned (i.e. in the positive part of axis 1) were associated with an increase in aromatic C and phenolic C at 153ppm. CLPPs of soils infrequently burned (i.e.in the negative part of axis 1) were correlated with higher relative intensities of all other chemical functions which contributed significantly to the canonical axes (i.e. *O*-Alkyl C, methyl C in polymethylene, phenolic C at 153ppm and carboxyl C).

Table 4.3: Correlation coefficients (r values) between NMR ^{13}C chemical functions of soil organic matter and microbial properties

^{13}C NMR signal (Chemical shift in ppm)	AWCD	Catabolic diversity	Basal respiration	Microbial biomass
Alkyl C *region* (0-45 ppm)				
Methylene 25 ppm	0.13	0.08	-0.25	0.09
Polymethylene 30+33 ppm	0.41	0.64**	0.87***	0.74***
Methoxyl C *region* (45-60 ppm)	0.41	0.55*	0.20	0.59*
O–Alkyl C *region* (60-92 ppm)	0.43	0.72***	0.75***	0.72***
Di-O-Alkyl C region (92-112 ppm)	0.15	0.52*	0.71***	0.47
Aromatic C *region* (112-142 ppm)	-0.41	-0.72**	-0.78***	-0.71***
Phenolic C *region* (142-160 ppm)				
Phenolic 147 ppm	0.32	0.76***	0.31	0.47
Phenolic 153 ppm	-0.46	-0.74***	-0.42	-0.61**
Carboxyl C region	0.72***	0.35	0.13	0.52*
Alkyl C / *O*–Alkyl C ratio	-0.34	-0.71**	-0.63**	-0.59*

*, **, *** indicate significance of linear regression at, respectively $P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.001$ (N=17).

4.3.5. Predictability of microbial properties and wildfire parameters by FT-NIR spectroscopy

Predictability of microbial properties (i.e. basal respiration, microbial biomass, catabolic diversity) and wildfire parameters (i.e. wildfire history index, fire number, time since fire and mean fire interval) by FT-NIR spectroscopy was performed by PLSR using 65 soils samples. Table 4.4 highlights for each microbial property and wildfire parameter, the mean, the range and the standard deviation for all 65 soil samples. The high SD values were high due to the wide range of wildfire history and of the three sampling years.

Table 4.4: variability of microbial variables and fire parameters (N=65)

	Mean	Minimum	Maximum
Microbial properties			
AWCD (unit of O.D.)	0.66	0.31	1.33
Catabolic diversity	17.18	14.04	21.53
Basal respiration (µg CO_2-C g^{-1}dry soil h^{-1})	2.80	0.79	5.91
Microbial biomass (µg C_{mic} g^{-1} dry soil)	1.70	0.47	3.19
Wildfire parameters			
Wildfire history index	0.41	0.13	0.78
Number of fire	2.60	1.00	4.00
Time since fire (year)	22.23	2.00	59.00
Mean fire interval (year)	25.53	10.75	59.00

The factor number used for prediction, R^2 associated to SECV and SEP, RPD and the bias values from PLSR are consigned in Table 4.5. For microbial properties, the best result was achieved for AWCD (R^2 of prediction=0.88; RPD=2.14; SEP=0.17 units of optical density). Basal respiration (BR), microbial biomass (MB) and catabolic diversity (CD) with R^2>0.8 in calibration and prediction and with RPD values comprised between 1.8 and 2, are considered as satisfactory and improvable predictions. Moreover, the range of SECV values was in agreement with the ranges of SEM and SEP, which provided an indication of the robustness of these microbial properties calibration (Table 4.5).

Table 4.5: Prediction of microbial properties and wildfire parameters

		Calibration (n=54)			Prediction (n=11)			
	SEM	F	R^2	SECV	R^2	SEP	RPD	Bias
Microbial properties								
AWCD	0.20	4	0.86	0.17	0.88	0.17	2.14	-0.013
Catabolic diversity	0.58	3	0.83	1.05	0.82	0.95	1.98	-0.21
Basal respiration	0.68	7	0.92	0.49	0.84	0.62	1.80	0.53
Microbial biomass	0.25	5	0.86	0.32	0.87	0.38	1.83	0.11
Wildfire parameters								
Wildfire history index	-	8	0.91	0.086	0.95	0.070	3.72	0.0052
Fire number	-	10	0.90	0.56	0.85	0.71	1.85	0.021
Time since fire	-	6	0.93	8.49	0.97	6.18	3.76	0.021
Mean fire interval	-	8	0.91	7.86	0.96	6.10	2.82	1.625

AWCD: average well colour development; SEM: Standard error of the method; F: factor number; SECV: Standard error of cross validation; SEP: Standard error of prediction; RPD: Residual predictive deviation

The prediction was the more accurate for wildfire history index (R^2=0.95, RPD=3.72) with a low error of prediction (SEP=0.07). Moreover, good prediction parameters were also obtained for the time since fire (R^2=0.97, RPD=3.76) and the mean fire interval (R^2=0.96,

RPD=2.82) but with predictive errors (SEP) close to 6 years. Prediction model of fire number was less accurate (R^2=0.85) but nevertheless with a lower predictive error than 1fire.

4.4. Discussion

4.4.1. Wildfire history index

Fires are characterised by their intensity, the frequency and also the season in which they occur, their spatial pattern or extent, and their type. Combined, these attributes describe the fire regime (Gill, 1975). According to Merrill and Alexander (1987), fire frequency is the average number of fires that occur per unit of time at a given point. Fire history is the chronological record of the occurrence of fire in an ecosystem and the main parameters of fire history are number of events, time since the last fire and fire intervals. Considering this definition, fire frequency does not allow to assess the effects of wildfire history on soil properties alone. Reich et al. (2001) proposed a fire frequency index based on the fire number over different periods and assessed the effect of increasing prescribed-fire frequency on soil nitrogen cycling. We previously proposed a fire recurrence index to model these fire parameters (Vergnoux et al., 2008). However, if we consider two different regimes in number of fires, this index, assigning different ranks for a common date of fire, will give more weight to this event into the more frequent fire regime. Moreover, this index gives too weight on old fires. Here, the wildfire history index (WHI) was developed in order to display, at a given point, a single numerical value representative of the different wildfire history parameters, and thus the random position of each fire event over the studied period that affects the soils properties and their recovery. The WHI was parameterised to increase with the number of fires, with the shortening of the time since the last fire and to give more weight to recent fires than to old fires. Moreover, the WHI model emphasises more on the time since the last fire than on the fire intervals and the number of fires. The exponential increase in WHI thus takes into consideration grievousness of the impact of recent fires on soil biochemical and biological properties (Prieto-Fernández et al., 1998). Moreover, the closer fires from each other's and the closer to the sampling date they occur, the higher WHI values will be. In another word, if 2 fires occurred within a period of 57 years and just before the sampling date, they may have had a stronger effect on a microbial property and its recovery than 4 fires over a period of 57 years with just one fire before the same sampling date. The WHI is able to take

into account the sensitivity of SOM quality and microbiological properties of repeated fires in near fire intervals and more especially when fires are recent (Hatten et al., 2008). Trends in recovery of soil properties along fire frequency were mainly studied with prescribed fires (Reich et al., 2001; Boerner and Brinkman, 2003; Campbell et al., 2008). However, prescribed fires are generally conducted using regular events and within the limits of a fire plan that describes both the acceptable range of weather, moisture, fuel, and fire behaviour parameters to achieve the desired effects. Trends in recovery of soil quality, described after repeated but constant fire history, cannot be accurately extrapolated to the increase of wildfires frequency partly because of the stochastic chronology of wildfire history and of the lower intensity of prescribed fires.

4.4.2. Changes in chemical functions of soil organic matter along WHI

Four years after fires, the loss of SOM content ranging from 25 % to 50 % is in accordance with the results of Fernández et al. (1997), whereas other works have detected an increase in C content with low fire intensities (Santín et al., 2008; Knicker et al., 2005) due to input of partly charred material or litter from decaying trees. Seventeen years after fires, SOM content fully recovered whatever the number of fires. Jonhson and Curtis (2001) suggested that the recovery in SOM content, at long term, could result from organic matter sequestration by polyvalent soil cations, transformation of fresh organic material into recalcitrant forms and also nitrogen inputs from N-fixer species. In the Maures Mountain ranges, the N-fixer *Calycotome spinosa*, a dominant species of burned areas (Table 4.1) could have increased soil N content and facilitated C sequestration (Paul and Clark, 1989). Moreover, fires could have increased bulk density of the topsoil (Giovannini et al., 1988) and thus further studies should analyse the effects of wildfire on C stock by expressing SOM on volume basis.

Unburned soils since at least 57 years (i.e. with the lowest WHI values) showed the usual spectra of poor humified SOM, in which the *O*-alkyl C signals representing carbohydrates but also side chains of lignin (Knicker et al., 2005) accounted for the greatest proportion (Santin et al., 2008). Another important region was the one between 0 and 45 ppm (peaks at 25 and 30+33 ppm) contributing to 19% of the spectra intensity and attributable mainly to alkyl C in lipids, plants waxes, cutans and suberans. The alkyl C/*O*-alkyl C ratio was in the range of usual values for unburned Mediterranean soils (Gonzalèz-Vila et al., 2002; Knicker et al., 2005; Certini et al., 2007) and also indicated a low degree of decomposition of

SOM (Webster et al., 2001). Our results showed a low relative intensity of aromatic structures (112-165 ppm) close to 20%. The aromatic C region (112-142 ppm) was the main contributor to this low aromaticity and could be attributed to lignin or products of lignin degradation, aromatic amino acids of proteins and black carbon at 133 ppm (Preston et al., 1997; Skjemstad et al., 1999).

Fires were found to remove external oxygen groups of organic compounds, to reduce the chain length of alkyl compounds (Eckmeier and Wiesenberg, 2009) and to converse amide-N into heterocyclic N compounds (González-Pérez et al., 2004). These authors also reported common transformations such as aromatisation of sugars and lipids, macromolecular condensation of humic substances and production of black carbon. In this study, frequent wildfires resulted four years after the last fire (i.e. highest WHI values) in the formation of condensed and presumably refractory material, which increased the intensity of aromatic C region (112-142 ppm) at the expenses of the alkyl C, *O*-Alkyl C, Di-*O*-alkyl C signals. Similar alterations of SOM quality were observed by González-Vila et al. (2002) two years after a fire. Santin et al. (2008) stated that a lower alkyl C/*O*-alkyl C ratio could reflect a slowing down in decomposition process after fire and thus a higher *O*-alkyl C intensity in burned soils. On the other side, we measured an increase in alkyl C / *O*-alkyl C ratio after fire. Guinto et al. (1999) showed similar results and stated that this increase revealed a preferential denaturation of carbohydrate relative to waxes and cutins, and could in turn slow down mineralisation rate. The phenolic C region is characterised by two peaks at 147 and 153 ppm, each assigned respectively to guaiacyl and syringyl lignin units (Preston et al., 1997; Kögel-Knabner, 2002). Condensed tannins also occur in at 153 ppm as well as pyrolysis products (Knicker, 2007). These two peaks show different responses to burning with a decrease of the peak at 147 ppm and an increase of the peak at 153 ppm, four years after fire. Preston et al. (1997) reported, for hardwood litter, that a split peak at 147/153 ppm implies a large contribution of tannins in addition to lignin. Overall, the decrease in methoxyl signal concomitant with the decrease of the phenolic C peak at 147 ppm confirms that fire resulted in a decrease of lignin content or by-products. Moreover, we assume that the increase of the peak at 153 ppm could result from toxic furans and pyranones formed during the charring of carbohydrates (Knicker, 2007) and also from condensed tannins brought by plant litter. In Mediterranean ecosystems, wildfires lead to the establishment of shrub communities, which are often close to monospecific stands of *Cistus* sp. (Castells et al., 2004, Curt et al., 2009). The litter of these pyrophyte species is characterised by high condensed tannins content (Castells et al., 2004).

The recoveries at short and long term in intensity of both methoxyl C region and *O*-alkyl C region were not affected by the number of fire as evidenced by their linear relationships with WHI. However, our study also confirms our initial hypothesis that some chemical functions of SOM can be in equilibrium with wildfire history. Indeed we provided strong evidence for thresholds in the recovery of four NMR signals and alkyl C/*O*-alkyl C ratio. Recovery in SOM of burned areas depends on quantity and quality of litter inputs, but also on the rate of decomposition by soil heterotrophic microorganisms (Baldock et al., 1997). Relative intensity of polymethylene structures in alkyl C region increased between 4 and 17 years after fires. These structures are considered as particularly recalcitrant form of soil C (Baldock et al., 2004). Moreover, hydrophobicity of these structures, as well as their adsorption on clay surfaces can also explain their accumulation at long term. The positive relationship between alkyl C and microbial parameters may indicate that microbial decomposition did not limit the recovery of aliphatic compounds. In the decomposition process, the labile carbohydrates and proteins are the first decomposed compounds after simple monomers such as glucose and amino acids (Lützow et al., 2006) whereas the relative proportion of more stable compounds, such as lipids and waxes, increase (Derenne and Largeau, 2001). In our study, both SOM content and microbial basal respiration (see section 4.3) recovered 17 years after infrequent and frequent fire regimes. Therefore the progressive increase in relative intensity of labile carbohydrate-derived structures suggests that the decomposition process could be limited by the poor nutrient availability (Rutigliano et al., 2004) but not by the SOM content nor by the microbial physiological status. Frequent fires were found to maintain high relative intensity of phenolic C peak attributed to condensed tannins probably by controlling plant communities and thus the quality of organic matter inputs. In the Maures mountain ranges, recurrent wildfires favour the expansion of shrublands (especially *Cistus* communities) (Curt et al., 2009) which produce high amounts of leaf secondary metabolites, including phenolic compounds (Gershenzon, 1984). Moreover, frequent fires were found to slow down the recovery in relative intensity of alkyl C of long-chain polymethylene. Curt et al (2009) also reported that dense coverage of *Cistus* species threatens the maintenance of cork and evergreen oak populations in the long term. The slowing down in the recovery of alkyl C signal intensity could thus result from a decrease in input of cuticular material including waxes, cutin and suberin, which is abundant for all Oak species of Mediterranean forests (Martins et al., 1999). Moreover, frequent fires could also have reduced the microbial synthesis of alkyl C compounds at the long term. Hopkins et al. (1997) reported that the enrichment of aliphatic carbons may be caused by the biosynthesis

mediated by the soil microorganisms. Additionally, Knicker (2004) showed that there are indications for the apparent stabilisation of labile compounds, produced by microbial resynthesis and biomass recycling, because old OM contains large amounts of microbial polysaccharides and proteins. Previous studies employing solid-state ^{13}C NMR technique indicated an increase in aliphatic compounds concomitantly with humification (Baldock et al., 1997), so the lasting low relative intensity of phenolic C peak assigned guaiacyl unit of lignin or by-products after frequent fires is consistent with our hypothesis. Regarding the trend in recovery of aromatic C region (112-142 ppm), we found that the recalcitrant char material did not remain 17 years after fire. These aromatic compounds could have been oxidised during decomposition leading to an increase in carboxyl C content (Knicker et al., 2006). However, the intensity of carboxyl C signal was not significantly affected by our fire histories. Therefore, other plausible explanations are that recovery of the relative intensity of aromatic structures with time could result from a loss of the black carbon through either erosion process (Rumpel *et al.*, 2006b) or through its chemical or biochemical oxidation (Cheng et al., 2006; Hilscher et al., 2009).

4.4.3. Changes in soil microbial properties along WHI and drivers

We found that both C-use intensity (i.e. average well colour development) and catabolic diversity have been reduced 4 years after infrequent and frequent fires. Contrary to Bergner et al. (2004), the BIOLOG® system was successful in relating C-use intensity and catabolic diversity to wildfire history. This difference could be due to the low frequency of the burnings events studied by Bergner et al. (2004). Our findings are however consistent with those of Campbell et al. (2008) but restricted to fast growing communities that can be cultivated in microplate conditions. In Biolog system, colour development was correlated with inoculum density and cellular respiration (Garland and Mills, 1991). Both soil microbial biomass and basal respiration were reduced 4 years after fires and thus could have resulted in the decrease in C-use intensity at short term.

In our study, catabolic diversity depended on both richness and evenness of the use of substrates (Degens et al., 2000). Richness, which is the number of C-substrate oxidised by the microbial community, was not affected by the wildfire history (data not shown). Therefore, the decrease in catabolic diversity can be attributed to a decrease in catabolic evenness (i.e. increase in the variability of substrates C-use by microbial community). A reduction in catabolic evenness was also found by D'Ascoli et al. (2005) in similar Mediterranean

bioclimatic context but after single fire and controlled intensity. The RDA tri-plot (Figure 4.5) showed that microbial community used more intensively a great number of some C-substrates, reflecting the lower catabolic evenness when WHI increased. These substrates consisted in some N-containing and complex substrates such as aromatic and polymers. Our previous work reported a decrease in nitrate contents in recently burned soils (Guénon et al., submitted). Concomitantly with the low nitrate contents, the high SOM aromaticity could have increase microbial demand in nitrogen resulting in a preferential utilisation of some substrates such as N-containing compounds. Indeed, Orwin et al. (2006) reported that the addition of complex compounds to a grassland soil increased the use of N-containing amino acids. They concluded that more enzymes were required for the decomposition of complex C compounds, which resulted in greater microbial N demand. Moreover recent wildfires dramatically increased aromaticity of SOM and could have favoured a strong capability of microbial community to oxidise aromatic compounds and polymers. The recovery in microbial catabolic profiles was related to the quality of SOM. Indeed, Monte Carlo permutation test confirmed that chemical functions of SOM, especially for *O*-alkyl C, aromatic C and phenolic C, were related to the ordination of C-substrate utilisation profiles. Our results support those of Degens et al. (2000) in that soil managements that resulted in lower SOM content, and also, in alteration of SOM quality consisting in a loss in readily decomposable organic C fractions, tended to result in lower catabolic evenness. Pietikäinen et al. (2000) also reported change in catabolic profiles after short term heating of dry forest humus which they explained by the change in quality of SOM. The labile organic fractions support a significant proportion of the heterotrophic microbial biomass (Chotte et al., 1998), and their loss after fire could decrease microbial catabolic evenness through disproportionate decline or enhancement in some catabolic functions. The decline in catabolic evenness could result in a less resistant decomposition function (Degens et al., 2000). If this is the case, then fire histories such as recent or close fires, resulting in substantial losses or alterations of SOM will generate a more vulnerable soil system to recurrent Mediterranean stresses such as drought and heat-waves.

The contributions of *O*-alkyl C to the ordination of catabolic profiles and the correlations with AWCD and catabolic diversity allowed us to suspect that changes in the more readily decomposable compounds have strong significance for recovery in microbial catabolic capabilities. The progressive recovery in decomposable fraction through vegetation inputs of fresh organic matter could have promoted an increase in microbial diversity, as stress-tolerating r-selected micro-organisms could co-exist with competitive K-selected

species (Grime, 1979), and thus increased the catabolic evenness (Schipper et al., 2001). Our results would support the Grime's (1979) intermediate disturbance hypothesis that predicts greatest diversity and evenness at intermediate level of disturbance. However we did not measure any decline in catabolic evenness at the higher levels of decomposable SOM. Therefore, we hypothesised that a fire history without burning event since 57 years at least could be an intermediate disturbance regime for the Mediterranean ecosystems.

4.4.4. Predictions by FT-NIR spectroscopy

Our study was the first attempt of quantitative prediction with FT-NIR of both the recovery of soil microbial properties at short and long term after fire and fire history parameters resulting in specific trends in recovery of these microbial properties. The calibration and prediction sets comprised respectively 54 and 11 samples collected in 4 times from January 2007 to June 2009.

Our results showed that information contained in near-infrared soil spectra can be used to predict the recovery of soil microbial properties. They confirm other works that successfully used NIR spectroscopy to predict soil biological properties (Cécillon et al., 2008), specific soil quality indices after fire (Cécillon et al., 2009), and recovery of microbial functions after a disturbance (Schimann et al., 2007). The predictions of basal respiration, microbial biomass and catabolic diversity were considered as satisfactory even if they can be improvable. We hypothesised that a strong seasonal variability in the microbial properties between the 4 sampling dates concomitantly with slow evolution of SOM quality and content could have increased the error of prediction. Indeed, Waldrop and Firestone (2006) reported strong seasonal and inter-annual variability in microbial properties of Mediterranean soils. Additionally, FT-NIR spectra are strongly affected by changes in soil organic matter (Foley et al., 1998). However, soil organic matter depletion is a long term degradation process in Mediterranean soils. Thus without seasonal changes in soil organic matter content or composition, the calibration and prediction models cannot explain the part of variance in seasonal variability of microbial activities (Shepherd et al., 2007).

As for microbiological properties, FT-NIR was successful in predicting wildfire history parameters such as time since fire and mean fire interval. The good correlation and prediction of WHI show it is a relevant synthetic index of the effects of the wildfire parameters in the recovery of soil organic matter. These results reflect the strong changes observed in soil organic matter quality along WHI using ^{13}C NMR. The number of fire was

the least predictable wildfire parameter. This result is in good agreement with the report by Knicker et al. (2006), who concluded that frequent fires do not affect soil organic matter quality more than a single burning. We also supported the hypothesis that fire severity could be a part of the error sources of prediction, as well as fires season unknown in this study.

4.5. Conclusions

The proposed wildfire history index was able to take into account the sensitivity of soil biochemical and microbiological properties to repeated fires in near fire intervals and more especially when fires are recent. Our study also confirms our initial hypothesis that some properties in Mediterranean soils are in equilibrium with wildfire history, up to a limit which depends on number of fires and time since fire. A high fire number (4 fires in 57 years compared to 1-2) resulted in lasting degradation of the soil organic matter inducing a slow-down in the recovery of some microbial properties. Fire histories such as recent or close fires, resulting in substantial losses or alterations of SOM could increase the vulnerability of microbial communities to recurrent Mediterranean drought and heat-waves. As expected, the recovery in microbial catabolic profiles was mainly related to the recovery of the more decomposable fraction of SOM (*O*-alkyl C region of ^{13}C NMR). Finally, this study demonstrates that FT-NIR analysis can be used as a valuable and inexpensive tool for the assessment of both the wildfire history and the vulnerability of soil quality to shifts in historical fire regime. Our findings could have strong implications regarding programs for soil quality monitoring and restoration.

Acknowledgements: This study was part of the IRISE project (http://irise.mediasfrance.org/) funded by the European Union, Forest Focus Regulation (No 2152/2003), the French Ministry of Agriculture and Fisheries and ECCOREV Research Federation. Financial support to R. Guénon was provided by the French Agency for Environment and Energy Management (ADEME) and Region Provence-Alpes-Côte d'Azur. Authors are grateful to F. Ruaudel, for her technical assistance. We are very grateful to Mrs. M. Sweetko and M.-L. Guénon for their helpful assistance in English language.

Chapitre 5

STABILITÉ DES FONCTIONS MICROBIENNES AUX STRESS HYDRIQUES

A notre connaissance, aucune recherche portant sur la stabilité des communautés microbiennes des sols méditerranéens n'a été publiée à ce jour. Pourtant, ces sols sont actuellement soumis à deux fortes contraintes qui sont la récurrence des incendies et une modification des régimes de précipitations pluviométriques. Ce chapitre est donc consacré à l'étude des effets des régimes d'incendies sur la stabilité des fonctions microbiennes aux stress hydriques. Les objectifs de ce travail sont multiples. Nous évaluerons les capacités de résistance et de résilience des fonctions cataboliques microbiennes (respiration basale, respiration induite et diversité catabolique) et d'activités enzymatiques extracellulaires *in-situ* (cellulases, phénol-oxydases, phosphatases acides et alcalines et FDA hydrolases) à un seul ou après 4 cycles successifs de dessiccation / humectation. Nous comparerons la vulnérabilité des communautés microbiennes à ces stress ayant préalablement subies une histoire d'incendie variable en nombre de feux et en date depuis le dernier feu. Nous testerons les effets d'un apport non limitant en ressource carbonée et azotée sur la stabilité des fonctions microbiennes et ceci en croisant à la fois l'histoire d'incendie et la récurrence de stress. Finalement, ce chapitre recherchera parmi les principales caractéristiques abiotiques (teneurs en matière organique, en C et N élémentaires, en N et P inorganiques) et biotiques (diversité catabolique, respirations basales et induites) des sols, celles qui sont les plus impliquées dans le contrôle de la résistance et de la résilience fonctionnelle microbienne.

5.1. Introduction

Une étude interdisciplinaire publiée dans Science (Schröter *et al.*, 2005) suggère que la région méditerranéenne européenne, dans ses composantes sociales et écologiques, est la plus vulnérable aux changements climatiques globaux susceptibles de se manifester au XXIe siècle. En effet, aux cours des dernières décennies le climat méditerranéen a été marqué par une réduction sensible des précipitations en période estivale (Meehl et Tebaldi, 2004). Cette tendance globale serait accompagnée par une plus grande fréquence d'événements extrêmes de type pluie torrentielle, canicule, sécheresse (GIEC, 2007). Un assèchement climatique prononcé sur l'ensemble du bassin méditerranéen affecterait directement l'équilibre et le fonctionnement des écosystèmes terrestres. Les effets du stress hydrique sur le fonctionnement des écosystèmes forestiers (McIntyre et Lavorel, 2001 ; Sardans et Penuelas, 2007 ; Sardans *et al.*, 2008 ; Allard *et al.*, 2008) et les réponses physiologiques et structurales des végétations méditerranéennes ont été largement étudiées (Pausas, 2004 ; Chiatante *et al.*,

2005 ; Corbin *et al.*, 2005 ; Pausas et Bradstock, 2007 ; Perry et Millington, 2008). Les événements de type sècheresse, en particulier leur récurrence, sont de nature à affecter directement la microflore du sol en diversité et en fonctionnalités et, probablement au-delà de certains seuils de stress, à ne pas permettre un retour à un état proche de l'état initial (Bouchet, 2008). Les capacités de résistance et de résilience fonctionnelle des communautés microbiennes des sols méditerranéens face aux stress du changement climatique restent cependant méconnues, et aucun travail ne décrit les effets d'une augmentation de la récurrence des incendies sur la vulnérabilité des fonctions microbiennes aux stress du changement climatique. Bien que les cycles de dessiccation/humectation constituent des stress classiques pour les sols méditerranéens (Schimel *et al.*, 2007) et qu'ils ont été rapportés comme des facteurs de contrôle majeurs dans le « turn-over » des communautés microbiennes (Fierer and Schimel, 2002; Orwin *et al.*, 2006), les communautés et les activités microbiennes potentiellement affaiblies par la répétition des incendies (cf chapitre 3) peuvent être plus vulnérables aux longues périodes de sécheresse régulièrement interrompues par de rapides et violents épisodes pluvieux. Cependant, la stabilité des processus écologiques fait actuellement débat autour de deux hypothèses centrales et opposées. La première prédit des fonctions écologiques plus stables dans les écosystèmes non perturbés que dans les écosystèmes perturbés ou stressés (Loreau 2000). La seconde hypothèse prédit qu'un écosystème subissant des stress successifs est plus stable qu'un écosystème subissant un stress pour la première fois (Odum, 1981). En absence de stress ou de perturbation préalable, les ressources sont présumées suffisantes pour procurer l'énergie nécessaire à la reconstruction des dommages engendrés par un stress unique, et permettraient d'assurer la sauvegarde à un niveau minimal des fonctions de l'écosystème (allocation de l'énergie pour accroitre la reproduction ou l'espérance de vie) (phénomène d'habituation) (Aarts and Nienhuis 1999; Naeem and Li, 1997). A l'opposé, il est probable que les populations et/ou fonctions sélectionnées par des stress précédents supportent plus efficacement les stress ultérieurs, assurant ainsi une pérennité des fonctions (phénomène d'adaptation).

Les cycles de dessiccation et d'humectation (D/H) sont connus pour détruire une part de la biomasse microbienne (Bottner, 1985). Par ailleurs, la dessiccation résulte en une diminution de la respiration basale, potentiellement diminuée par les feux (Hernández *et al.*, 1997), qui par la suite augmente, lors de la phase d'humectation, jusqu'à largement dépasser les valeurs des sols non stressés (i.e. conservés à une humidité constante) (Mikha *et al.*, 2005). Cette augmentation de l'activité physiologique microbienne résulte de la libération de

ressource labile (i.e. flush de C et N) provenant de la biomasse microbienne détruite (i.e. « priming effect »), et/ou de matières organiques inertes auparavant indisponibles ou séquestrées dans la matrice minérale (Borken et Matzner, 2009) et utilisées par les communautés microbiennes qui ont survécu. Par ailleurs, ces stress hydriques déstructurent les sols en détruisant les agrégats (Cosentino *et al.*, 2006), libérant ainsi de la matière organique au préalable protégée contre l'attaque microbienne, et contribuant à la libération de nutriments par l'augmentation de la minéralisation (Mikha *et al.*, 2005). Ce « flush » en nutriments peut également provenir de l'osmorégulation des cellules microbiennes lors des changements de condition hydriques ou par libération d'ions préalablement liés à une matrice minérale (Borken et Matzner, 2009). Cependant, ce « flush » peut disparaître par lessivage (Turner et Haygarth, 2001) et par prélèvement par les plantes et les micro-organismes (Bottner, 1985) permettant de conserver la ressource de l'écosystème. Par ailleurs, une dessiccation lente et à température ambiante (i.e. non combiné à un stress thermique) affecte généralement peu les activités enzymatiques, alors que l'humidification peut induire à court terme, certaines fluctuations dans leurs réponses dépendamment de l'enzyme considérée (Zornoza *et al.*, 2006). La minéralisation de la matière organique par les enzymes synthétisées et libérées par les micro-organismes dans les sols est un processus clé de la productivité et de la stabilité de l'écosystème. Caldwell (2005) définit les activités enzymatiques comme une composante intrinsèque de la diversité fonctionnelle microbienne. La diversité fonctionnelle catabolique est d'ailleurs suspectée comme étroitement impliquée dans la stabilité des communautés microbiennes à des stress (Degens *et al.*, 2001).

Comparativement aux perturbations, les stress moins intenses devraient affecter de manière plus lente la structure et le fonctionnement des sols. Dans ce contexte, il est nécessaire d'étudier la stabilité de l'écosystème microbien sur une échelle temporelle. Ces mesures dynamiques doivent concerner autant l'évolution du statut physiologique des communautés (i.e. activité respiratoire, diversité des fonctions cataboliques) que celle des activités enzymatiques impliquées dans la minéralisation de la matière organique et donc la nutrition microbienne.

Hypothèses de travail

Les feux répétés en affectant les communautés microbiennes (taille, activité et diversité fonctionnelle) (Chapitre 3) et en diminuant la quantité et la qualité des ressources

organiques et minérales (Chapitre 3 et 4) sont supposés induire une perte de résistance et de résilience des fonctions microbiennes aux stress hydriques (cycle dessication/humectation). Ainsi, la stabilité microbienne à un stress hydrique est supposée diminuer d'autant plus que le nombre de feux est élevé et que le temps écoulé depuis le dernier feu est court.

Concernant les comportements des fonctions vis-à-vis de la fréquence des stress hydriques, un cycle unique de dessiccation/humectation est supposé détruire une partie de la biomasse microbienne et, par le déclenchement d'un mécanisme de ''priming effect'', augmenter les niveaux d'activités respiratoires et enzymatiques. Les cycles récurrents sont au contraire supposés diminuer les niveaux d'activités consécutivement à un épuisement de carbone labile, mais pourraient également augmenter la stabilité de ces fonctions en sélectionnant des espèces résistantes ou en diminuant la compétition pour les ressources.

Les effets des stress hydriques sont supposés dépendre de l'état initial de perturbation de l'écosystème, c'est-à-dire du régime d'incendie. En effet, nous prédisons une vulnérabilité des activités microbiennes aux stress plus forte dans des sols fréquemment et/ou récemment incendiés, causée par une dégradation plus importante des potentialités du sol (ressource moins disponible) et des communautés (diversité et biomasse réduite).

Nous suggérons que les incendies récurrents, en détruisant la matière organique et en volatilisant les nutriments, favorise des communautés microbiennes dont la stabilité des fonctions est fortement dépendante de la ressource disponible. Ainsi, l'apport expérimental de ressources en quantité non limitante est supposée optimiser les niveaux de résistance et de résilience des fonctions cataboliques et enzymatiques.

5.2. Matériels et méthodes

5.2.1. Régimes d'incendie étudiés

Les sols étudiés dans ce chapitre ont été prélevé sur 17 parcelles (Massif des Maures, Var) pour lesquelles nous connaissons précisément les dates de feux (*Cf.* Chapitres 2). Cinq modalités de régimes d'incendie ont été sélectionnées pour ce travail parmi les 6 définies pour la thèse. Les parcelles et les régimes sont ceux étudiés dans le chapitre 3 :

- **NB-1950** regroupant 5 parcelles indépendantes non brûlées depuis au moins 1950 ;
- **IB-1990** regroupant 3 parcelles indépendantes ayant subi peu de feux (1 ou 2) dont le dernier a eu lieu en 1990 ou 1982 ;
- **FB-1990** regroupant 3 parcelles indépendantes ayant subi de nombreux feux (4) dont le dernier a eu lieu en 1990 ;
- **IB-2003** regroupant 3 parcelles indépendantes ayant subi peu de feux (2) dont le dernier a eu lieu en 2003 ;
- **FB-2003** regroupant 3 parcelles indépendantes ayant subi de nombreux feux (4) dont le dernier a eu lieu en 2003 ;

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.

5.2.2. Expérimentations de laboratoire pour évaluer la stabilité microbienne

Les effets d'un apport de ressources ont été étudiés en conditions expérimentales et contrôlées de laboratoire. Pour cela, les échantillons de terrain ont été subdivisés en deux parts égales. La première aliquote (nommée 'F' pour 'fertilisée') à été amendée d'un mélange de cellulose pure microcristalline (Sigma) et de nitrate d'ammonium. La quantité de cellulose apportée à un échantillon (20 $mg.g^{-1}$ de matière sèche) a été préalablement déterminée de manière à optimiser la respiration basale microbienne. La quantité de nitrate d'ammonium apportée aux échantillons a été calculée pour obtenir un C/N du mélange cellulose/azote égale à 15. La deuxième aliquote de l'échantillon composite de terrain n'a pas été amendée, elle sera nommée 'NF' pour 'non fertilisé'.

Pour chaque parcelle, trois fractions de 120 grammes (équivalent du poids sec) de sols F et NF ont alors été pesées 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 d'optimum de température (25°C) et d'humidité (60% de leur capacité au champ).

Après la semaine de stabilisation, le tiers des échantillons a été maintenu dans ces conditions d'incubation pendant 28 jours consécutifs. Ces échantillons ne subissant pas d'assèchement seront nommés 'T' et constitueront les sols témoins (i.e. non stressés). Les échantillons de la deuxième et de la troisième série subiront un stress hydrique de récurrence

différente, respectivement 1 et 4 cycles de dessiccation et d'humectation (cycle D/H) (Mikha *et al.*, 2005). 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 5% 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 microbiennes décrites ci-dessous ont été mesurées 48h (mesure de la résistance) et 14 jours (mesure de la résilience) après la dernière ré-humectation du dernier cycle D/H. Pendant la période de 14 jours de résilience, les échantillons ont été conservés dans des conditions d'optimum de température (25°C) et d'humidité (60% de leur capacité au champ).

Les activités microbiennes mesurées sur les sous-échantillons qui ont subi les stress hydriques (P) ont été exprimées en pourcentage des témoins (T) c'est-à-dire les sous-échantillons qui n'ont pas reçu de stress hydrique. La résistance (RT) et la résilience (RL) ont été calculées comme suit :

$$\text{RT et RL } (\%) = \frac{\text{Pi}}{\text{Ti}} \times 100$$

Une valeur proche de 100% indique une résistance ou une résilience élevée. Les valeurs supérieures à 100% indiquent une amplification des activités microbiennes alors que des valeurs inférieures à 100% montrent une diminution de ces activités. Ce calcul a été choisi car il est au plus près de la définition de la stabilité (i.e. résistance et résilience) comme étant respectivement soit la capacité d'une fonction ou d'une activité à éviter un déplacement ou à revenir après le stress.

5.2.3. Mesure des activités microbiennes

Les protocoles détaillés de mesure des activités citées ci-dessous ont été présentées dans le chapitre 2. Les variables étudiées sont donc succinctement présentées dans ce paragraphe.

Les respirations microbiennes 1) basales (RB) et 2) induites par ajout de glucose (RI) ont été mesurées selon les protocoles décrits par Anderson et Domsch (1978). La respiration

induite a été utilisée comme une mesure relative de la biomasse active (Orwin *et al.*, 2006). Les activités respiratoires sont exprimées en mg de C-CO_2 .g^{-1} de sol sec.

Les profils cataboliques des communautés microbiennes ont été déterminés par la méthode Biolog® Ecoplates (BIOLOG Inc., Hayward, CA) selon la méthode modifiée de Garland et Mills (1991). La diversité catabolique (D) a été calculée par la réciproque de l'indice de Simpson 1/D (Simpson, 1949):

$$D = \quad p_i^2$$

Où p_i est la densité optique moyenne relative du $i^{ème}$ substrat.

L'activité fluoresceine diacetate hydrolase (FDAse) a été évaluée en accord avec la méthode modifiée de Green *et al.* (2006). Les activités phosphomonoestérases acides (Pma) et basiques (Pmb) ont été déterminées par la méthode de Tabatabai et Bremner (1969). La phénol-oxydase a été dosée en utilisant le protocole de Saiya-Cork *et al.* (2002). L'activité cellulase a été mesurée selon la méthode modifiée de Deng et Tabatabai (1994). Les mesures ont été réalisées en tripliquats pour chaque échantillon de sol. Les mesures d'activités enzymatiques ont été exprimées en µmole de substrat hydrolysé ou oxydé par min (U) et par g de sol équivalent poids sec (U.g^{-1} de sol sec).

5.2.4. Mesure des propriétés chimiques des sols

Les protocoles détaillés de mesure des propriétés chimiques citées ci-dessous ont été présentées dans le chapitre 2. Les variables étudiées sont donc succinctement présentées dans ce paragraphe.

Les teneurs en carbone organique total (COT) et en azote total (N) ont été déterminées en utilisant un analyseur élémentaire CN FlashEA 1112 (ThermoFisher) (NF ISO 10694, NF ISO 13878). La teneur en matière organique a été mesurée par perte de masse d'un échantillon sec lors d'une calcination à 550°C pendant 16 heures. Les teneurs en ammonium (µg de N-NH_4^+.g^{-1} de sol sec) et en nitrate (µg de N-NO_3^-.g^{-1} de sol sec) ont été mesurées par colorimétrie respectivement selon les méthodes de Mulvaney (1996) et de Keeney et Nelson (1982), après leur extraction réalisée en accord avec le protocole de Mulvaney (1996). Le phosphore inorganique a été extrait par les méthodes Dyer (AFNOR X 31-160) puis dosé par colorimétrie (Murphy et Riley, 1962). Les spectres SPIR des sols témoins, stressés par 1 cycle et 4 cycles D/H ont été obtenus selon le protocole décrit dans le chapitre 2.

5.2.5. Analyses statistiques

Les effets du régime d'incendie (I), de la fréquence de stress hydrique (S), de l'apport de ressources (R) et de leurs interactions sur les activités microbiennes ont été analysés par des ANOVA à 3 facteurs (modèle de type I) en utilisant le logiciel Statistica 6.0. Seuls les résultats des interactions à deux niveaux (I×R, I×S et R×S) sont présentés. Lorsque des interactions significatives sont observées au seuil de $P<0,05$, nous avons analysé séparément les effets des facteurs I, S et R par des ANOVA à 1 facteur. Ces ANOVA ont été complétées par des tests de comparaisons multiples des moyennes (LSD pour 'least significant differences') pour analyser en détail les variations entre les modalités des régimes d'incendies, ou des tests de Student pour comparer les modalités de stress hydriques ou d'apports de ressource. Les données ont été transformées lorsque cela était nécessaire pour remplir les conditions d'homogénéité de variance entre les groupes et respecter la normalité de leur distribution. Les modifications éventuelles des profils cataboliques (Biolog®) et les spectres SPIR par les stress hydriques ont été étudiés par des analyses en composantes principales (ACP) et les différences par paires par des PERMANOVA.

5.3. Résultats

5.3.1. Effets des stress hydriques sur les propriétés chimiques des sols non fertilisés

Les effets moyens des stress hydriques, c'est à dire pour l'ensemble des régimes d'incendies, sur les teneurs en ammonium et en nitrate sont présentés dans la Figure 5.2. Aucune différence significative de teneurs en ammonium n'a été mesurée entre 1 et 4 cycles D/H. Les teneurs en nitrate après une succession de 4 cycles D/H ont été significativement diminuées par rapport à 1 seul cycle. L'ACP générée à partir des spectres du proche-infra-rouge (Figure 5.3) révèle l'absence de modification par les stress des caractéristiques spectrales des sols (Permanova, $P>0.05$).

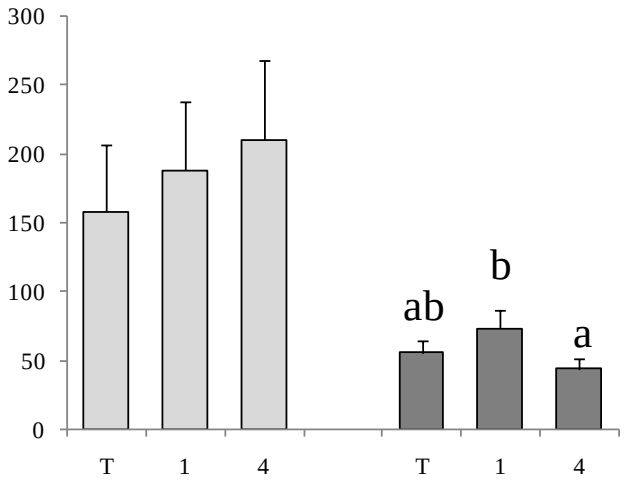


Figure 5.1 : Teneurs moyennes (N=17) en ammonium (barres grisée claires) et en nitrate (barres grisées foncées) dans les sols témoins non stressés (T), après 1 cycle D/H (1) et 4 cycles D/H (4). Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs types et les lettres minuscules différentes indiquent une différence significative entre les moyennes (Test LSD).

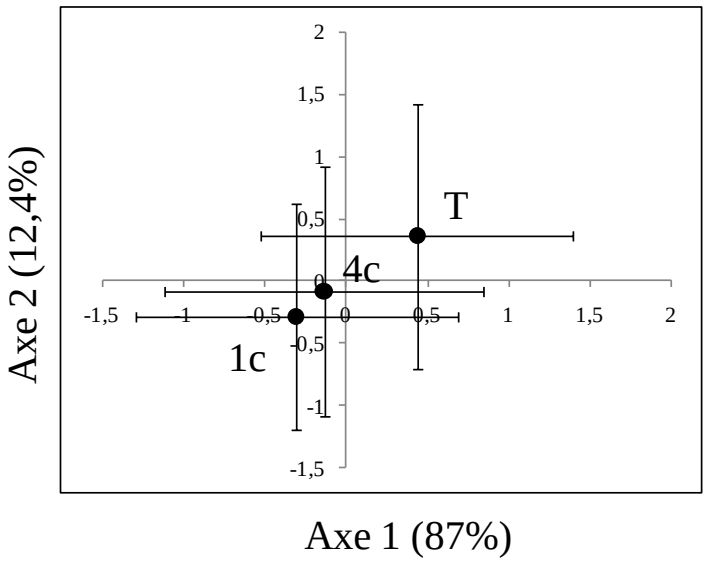


Figure 5.2 : Diagramme factoriel (axes 1 et 2) généré par une ACP sur les spectres SPIR des sols non stressés (T), stressés par 1 cycle D/H (1c) et stressés par 4 cycles D/H (4c). Les ronds noirs représentent les coordonnées moyennes des échantillons (N=17) et les barres d'erreurs représentent les erreurs types.

5.3.2. Effets des stress hydriques sur les activités respiratoires et cataboliques microbiennes des sols non fertilisés

Les effets moyens des stress hydriques, c'est à dire pour l'ensemble des régimes d'incendies, sur les activités respiratoires basales et induites sont présentés dans la Figure 5.4A. Une différence significative de respiration basale a été enregistrée entre 1 cycle et 4 cycles D/H et se traduit respectivement par une augmentation et une diminution des activités respiratoires par rapport au témoin. Aucune différence significative de respiration induite n'a été observée entre les deux types de stress, mais ces activités sont significativement diminuées par rapport au témoin. Le quotient métabolique a été significativement augmenté après 1 cycle de stress et diminué après 3 cycles supplémentaires (Figure 5.4B). L'ACP générée à partir des profils cataboliques révèle une modification significative de la structure fonctionnelle des communautés microbiennes, 48 h après l'application de 4 cycles D/H uniquement (Permanova, P<0.001) (Figure 5.5).

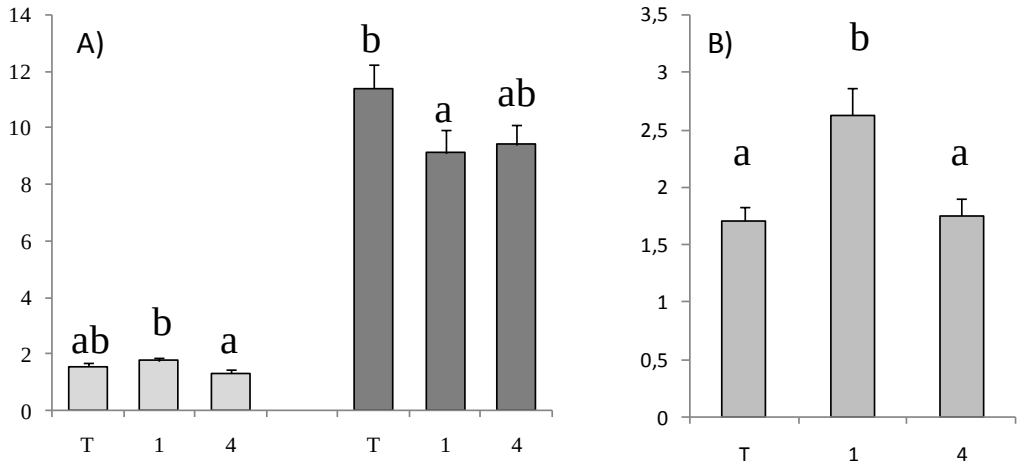


Figure 5.3 : Respirations basales et induites moyennes (N=17) (Figure 5.4A, respectivement barres grisée claires et barres grisées foncées) et quotients métaboliques (Figure 5.4B) des sols témoins non stressés (T), après 1 cycle D/H (1) et 4 cycles D/H (4). Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs types et les lettres minuscules différentes indiquent une différence significative entre les moyennes (Test LSD).

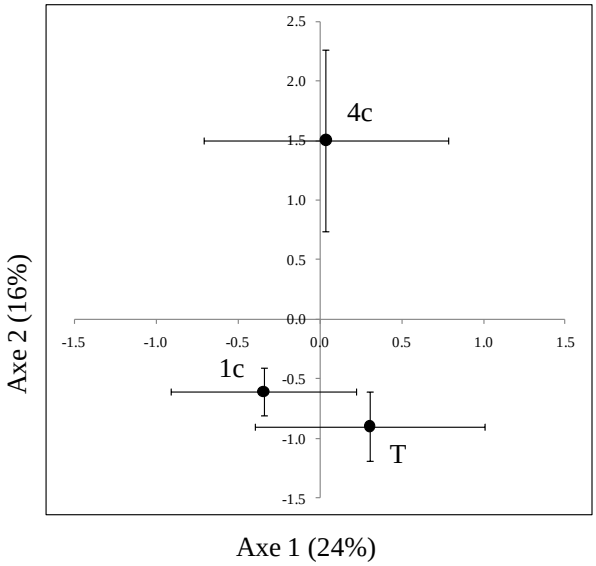


Figure 5.4 : Diagramme factoriel (axes 1 et 2) généré par une ACP sur les profils Biolog® des sols non stressés, stressés par 1 cycle D/H et stressés par 4 cycles D/H.

5.3.3. Caractéristiques chimiques et microbiologiques après l'apport expérimental de cellulose et d'azote inorganique

Sept jours après un apport de cellulose et d'azote inorganique, les teneurs en MO, COT, NT, ammonium, nitrate ont significativement augmenté (test t, P<0,001) par rapport aux sols non fertilisés et le rapport C/N a significativement diminué de 2 unités (test t, P<0,001) (Tableau 5.1). Par ailleurs, cet apport a significativement augmenté près de 6 fois la respiration basale (RB), alors que la respiration induite (RI) n'est que doublée ce qui a induit l'augmentation du qCO_2 devenu 3 fois plus élevé. Pour ce qui est des activités enzymatiques, l'apport de ressource a augmenté significativement les phosphomonoestérases acide (Pma) et alcaline (Pmb) et les cellulases alors qu'elle divise significativement d'un facteur 10 l'activité des phénol-oxydases. L'activité FDAse et la diversité des fonctions cataboliques n'ont pas été modifiées par les apports de ressources.

Tableau 5.1 : Caractéristiques chimiques et microbiologiques des sols non fertilisés et fertilisés (moyennes ±erreurs types)

	Sols Non Fertilisé (NF)	Sols Fertilisés (F)
% MO	7,5 ±0,5	11,5 ± 0,5***
COT ($g.kg^{-1}$)	39,8 ±3,1	54,7 ±2,7***
Ntot ($g.kg^{-1}$)	2,33 ±0,2	3,64 ±0,2***
C/N	17,5 ±0,7	15,2 ±0,4***
$N{-}NH_4^+$ ($mg.kg^{-1}$)	106,0 ±17,9	7390,0 ±109,0***
$N{-}NO_3^-$ ($mg.kg^{-1}$)	31,0 ±3,9	794,0 ±30,0***
$P{-}PO_4^{3-}$ ($mg.kg^{-1}$)	148,0 ±29,0	145,0 ±26,0
RB (µg $C{-}CO_2$ g^{-1} sol sec h^{-1})	1,84 ±0,16	10,8 ±0,7***
RI (µg $C{-}CO_2$ g^{-1} sol sec h^{-1})	15,4 ±1,4	32,2 ±2,1***
qCO2	1,54 ±0,1	4,22 ±0,2***
Pma (mU. g^{-1} sol sec)	11,4 ±0,9	14,5 ±1,0*
Pmb (mU. g^{-1} sol sec)	8,59 ±0,7	12,16 ±0,7***
Ph.Ox. (U. g^{-1} sol sec)	0,33 ±0,03	0,029 ±0,003***
FDAse (mU. g^{-1} sol sec)	0,99 ±0,1	1,14 ±0,1
Cell. (mU. g^{-1} sol sec)	0,71 ±0,21	14,67 ±1,7***
Dté catab. (Simpson)	19,7 ±0,3	19,7 ±0,4

Abbréviations : MO : Matière organique ; COT : Carbone organique total ; Ntot : Azote total ; RB : Respiration basale ; Respiration induite ; Pma : Phosphomonoestérase acide ; Pmb : Phosphomonoestérase alcaline ; Ph.Ox. : Phénol-oxydase ; FDAse : FDA hydrolase ; Cell. : Cellulase ; Dté catab.: Diversité catabolique. U : unité enzymatique exprimée en µmoles de produit libéré par minute. * et *** indiquent des différences significatives entre les sols NF et F (P<0,05 et P<0,001 respectivement, test de Student).

5.3.4. Modulations de la stabilité des activités respiratoires et de la diversité catabolique par le régime d'incendie, l'apport de ressources et le régime de stress.

La réponse de la respiration induite (RI) aux stress hydriques ne dépend pas du régime d'incendie (Tableau 5.2). Nous avons mesuré une diminution de RI après les stress comprise entre 8 et 22%, sans différence significative entre les régimes d'incendie (Tableau 5.3). Quatorze jours après les stress, les pourcentages de RI du témoin (Tableau 5.3) sont identiques à ceux obtenu 48 h après le stress à l'exception de FB-2003 qui augmente significativement de 15,7%. L'interaction significative S*R (Tableau 5.2) indique que l'effet de l'apport de ressource sur la réponse de la RI aux stress dépend de la fréquence de ces stress. L'apport de ressource augmente significativement la résistance de la RI à un seul cycle de stress hydrique qui atteint dans ce cas 100% de l'activité du témoin (Figure 5.6a). L'apport de ressource diminue significativement la résilience de la RI après un cycle de stress (Figure 5.6b).

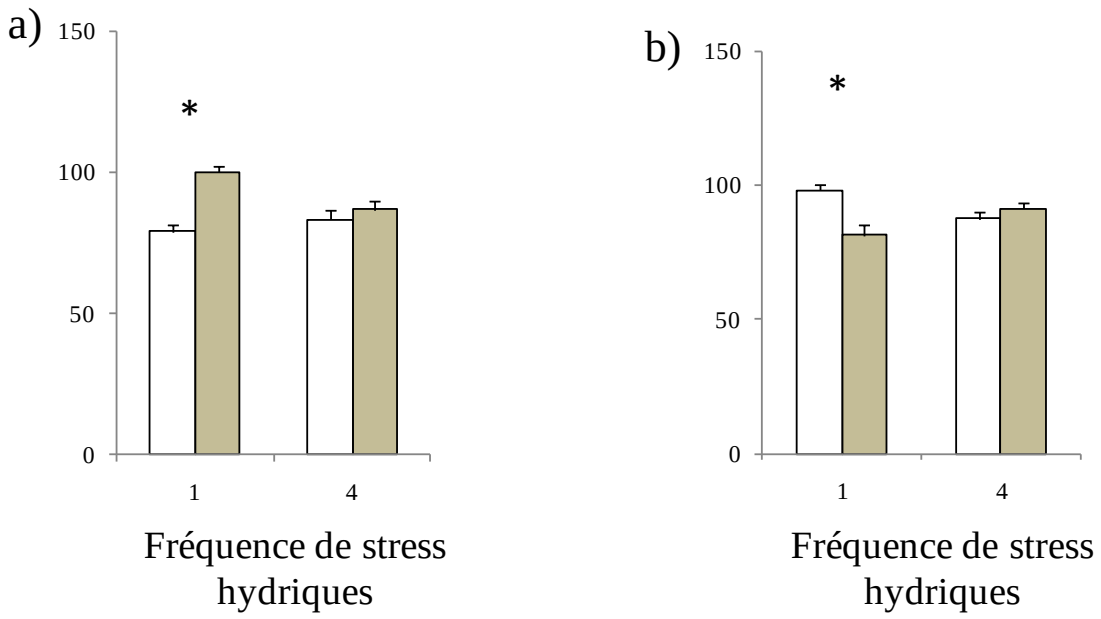


Figure 5.5 : Résistance de la RI (a) et résilience de la RI (b). Les barres blanches correspondent aux sols non fertilisés et les grises aux sols fertilisés. L'astérisque (*) indique une différence significative entre moyennes des sols non fertilisés et fertilisés. Les barres verticales représentent les erreurs types.

La réponse de la respiration basale microbienne (RB) aux stress hydriques est significativement affectée par le régime d'incendie (Effet principal : F=3,01, p<0,05) (Tableau 5.2). Les niveaux de RB par rapport au témoin augmentent pour les régimes IB-1990, FB-1990 et FB-2003 mais diminuent de 21% pour le sol IB-2003 (Tableau 5.3). Par ailleurs, la RB a augmenté après un cycle de stress hydrique (+17,6 %) et diminuée après 4 cycles successifs (-14,2%). Quatorze jours après le stress, la RB a diminué significativement pour tous les régimes d'incendies atteignant des pourcentages du témoin compris entre 62,6% et 92,7% (Tableau 5.3). La résilience de la RB après les stress hydriques est cependant contrôlée significativement par le régime d'incendie (Effet principal : F=3,24, p<0,05) (Tableau 5.2). Ainsi, IB-2003 et FB-2003 présentent les pourcentages du témoin les plus faibles (Tableau 5.3). La plus grande déviation entre 48h et 14 jours, a été mesurée pour FB-2003 (de 107,9% à 69,7%).

Tableau 5.2 : Résultats des ANOVA à 3 facteurs testant l'effet du régime d'incendie, la récurrence de stress hydriques et la disponibilité de la ressource sur la résistance et la résilience des activités microbiennes.

		RB		RI		Dté catab.		Pma		Pmb		PO		FDAse		Cell	
	dl	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Résistance																	
Incendie (I)	4	3,01	<0,05	1,46	ns	1,83	ns	4,95	<0,01	8,25	<0,001	1,34	ns	2,49	<0,05	0,97	ns
Stress (S)	1	17,98	<0,001	0,59	ns	8,68	<0,01	1,49	ns	15,38	<0,001	3,30	ns	39,78	<0,001	31,45	<0,001
Resource (R)	1	0,24	ns	5,77	<0,05	16,73	<0,001	47,88	<0,001	103,37	<0,001	13,46	<0,001	134,18	<0,001	0,50	ns
I*S	4	1,58	ns	0,74	ns	0,55	ns	7,28	<0,001	2,52	<0,05	0,52	ns	2,22	ns	3,90	<0,01
I*R	4	1,50	ns	2,30	ns	1,11	ns	8,57	<0,001	6,32	<0,001	1,13	ns	1,96	ns	5,10	<0,01
S*R	1	0,06	ns	4,19	<0,05	0,79	ns	1,89	ns	57,79	<0,001	3,13	ns	11,50	<0,001	7,37	<0,01
Résilience																	
Incendie (I)	4	3,24	<0,05	0,91	ns	ND	ND	4,69	<0,01	7,00	<0,001	0,36	ns	1,36	ns	2,79	<0,05
Stress (S)	1	0,54	ns	0,07	ns	ND	ND	1,46	ns	39,38	<0,001	1,83	ns	63,49	<0,001	11,05	<0,01
Resource (R)	1	1,08	ns	3,06	ns	ND	ND	8,87	<0,01	69,58	<0,001	4,03	<0,05	24,75	<0,001	3,04	ns
I*S	4	0,97	ns	0,74	ns	ND	ND	0,37	ns	4,28	<0,01	2,86	<0,05	2,70	<0,05	2,46	<0,05
I*R	4	1,41	ns	1,02	ns	ND	ND	1,91	ns	16,43	<0,001	1,38	ns	8,17	<0,001	7,74	<0,001
S*R	1	2,03	ns	4,54	<0,05	ND	ND	0,57	ns	24,27	<0,001	3,07	ns	13,29	<0,001	7,30	<0,01

Abréviations : RB, Respiration basale microbienne ; RI, respiration induite par ajout de glucose, Pma, phosphomonoestérases acides ; Pmb, phosphomonoestérases alcalines ; PO, phénol-oxydase ; FDAse, fluorescéine diacétate hydrolase ; Cell, cellulases ; Dté catab., diversité catabolique ; ns, non significatif au niveau P<0,05 ; ND, non déterminé.

Tableau 5.3 : Valeurs moyennes (±écart-types) des activités microbiennes sous l'influence des effets principaux du régime de feu, de la récurrence des stress hydriques.

	Régime d'incendie					Stress hydriques		Ressource	
Propriétés	NB-1950	IB-1990	FB-1990	IB-2003	FB-2003	1c	4c	NF	F
Résistance									
RB	96,7±6,3^{ab}	117,5±10,4^{b}	110,3±9,0^{b}	79,1±6,4^{a}	107,9±15,0^{ab}	117,6±5,0^{b}	85,8±4,8^{a}	101,0±4,2	102,3±6,4
RI	92,1±4,5	90,1±4,8	86,1±2,1	88,0±3,1	77,3±9,5	89,7±3,5	85,1±2,4	81,1±2,2^{a}	93,6±3,4^{b}
Dté catab.	103,0±2,4	101,6±2,3	104,3±2,4	98,2±2,1	97,7±2,8	104,3±1,2^{b}	98,1±1,4^{a}	104,9±1,1^{b}	97,5±1,5^{a}
Pma	87,0±3,8^{a}	91,9±5,0^{ab}	116,0±15,5^{c}	97,2±6,7^{ab}	100,9±8,6^{bc}	99,3±5,3	95,2±3,9	112,6±4,5^{b}	81,9±3,5^{a}
Pmb	80,5±3,7^{b}	70,5±7,1^{a}	82,9±9,5^{b}	61,6±5,8^{a}	90,1±12,2^{b}	84,5±1,8^{b}	70,6±5,6^{a}	93,5±3,5^{b}	61,6±3,6^{a}
PO	109,4±15,5	128,9±32	86,5±7,0	117,9±18,2	82,1±6,8	118,9±12,5	92,0±6,6	134,4±12,6^{b}	76,5±3,0^{a}
FDAse	63,8±6,2^{a}	87,5±18,7^{abc}	68,4±9,5^{ab}	85,3±11,1^{c}	88,0±15,1^{bc}	62,4±5,3^{a}	91,3±7,0^{b}	105,1±6,3^{b}	48,6±3,3^{a}
Cell	127,1±36,4	119,3±42,8	97,6±17,8	184,8±52 ,3	360,4±161,4	259,0±53,0^{b}	84,8±19,6^{a}	155,9±36,9	187,8±46,6
Résilience									
RB	86,4±5,9^{bc}	92,7±10,5^{c}	84,0±7,9^{bc}	62,6±5,0^{a}	69,7±3,4^{ab}	76,7±3,2	83,2±4,8	75,6±3,5	84,3±4,5
RI	90,6±3,3	92,0±7,9	80,1±4,4	91,7±4,9	93,0±6,1	89,8±2,5	89,4±3,2	92,9±3,2	86,4±2,4
Pma	104,7±3,3^{b}	93,4±4,2^{a}	90,0±5,1^{a}	92,8±3,6^{a}	81,5±6,7^{a}	91,9±2,4	96,0±3,0	87,8±1,9^{a}	100,1±3,1^{b}
Pmb	98,2±3,4^{b}	95,7±3,9^{ab}	98,6±4,1^{b}	88,0±4,7^{a}	115,0±16,5^{c}	89,0±1,9^{a}	109,0±5,3^{b}	111,4±5,0^{b}	86,6±1,8^{a}
PO	102,9±4,8	107,2±11,6	102,8±7,8	96,9±7,1	99,9±10,8	106,2±4,7	97,9±4,1	107,0±3,5^{b}	97,0±5,1^{a}
FDAse	134,5±10,1	136,9±16,4	117,9±14,4	147,2±19,4	142,6±22,6	104,3±3,4^{a}	167,1±9,9^{b}	116,5±6,6^{a}	154,9±9,7^{b}
Cell	158,3±40,8^{b}	126,4±20,6^{ab}	75,7±17,5^{a}	88,7±25,6^{a}	93,1±19,7^{a}	153,2±22,1^{b}	75,4±9,3^{a}	87,3±10,4	141,3±22,5

Abréviations : RB, Respiration basale microbienne ; RI, respiration induite par ajout de glucose, Pma, phosphomonoestérases acides ; Pmb, phosphomonoestérases alcalines ; PO, phénol-oxydase ; FDAse, fluorescéine diacétate hydrolase ; Cell, cellulases ; Dté catab., diversité catabolique ; NF, non fertilisés ; F, fertilisés. Les moyennes avec les mêmes lettres minuscules ne sont pas significativement différentes ai niveau de P<0,05 (LSD de Fischer).

Les pourcentages de diversité des fonctions cataboliques du témoin sont, après 1 et 4 cycles de stress, significativement différents mais proche de 100% du témoin (respectivement 104% et 98%) (Tableau 5.3).

5.3.5. Modulations de la stabilité des activités enzymatiques par le régime d'incendie, l'apport de ressources et le régime de stress

La résistance de la phosphomonoesterase acide (Pma) est significativement contrôlée à la fois par le régime d'incendie et l'apport de ressource (Interactions I*R : F=8,57, p<0,001) (Tableau 5.2). En absence d'apport de ressource, l'activité Pma des sols FB-1990 a été augmentée de 50% à la suite des stress (Figure 5.7a). L'apport de ressource diminue significativement le pourcentage par rapport au témoin des activités Pma des sols FB-1990 et FB-2003, et diminue la résistance de cette enzyme pour le sol NB-1950 (Figure 5.7a). Quatorze jours après les stress, la Pma est significativement dépendante du régime d'incendie et de la ressource mais sans interaction entre les deux facteurs (Tableau 5.2). Ainsi, nos résultats révèlent, 14 jours après les stress, une augmentation de la Pma de 4,7% du témoin pour les sols NB-1950 (Tableau 5.3). Inversement, une diminution des activités des sols FB-1990 et FB-2003 a été mesuré 14 j après les stress par rapport à celle mesurée après 48h (respectivement de 116% à 90% et de 100,9% à 81,5%) (Tableau 5.3). L'apport de ressource a favorisé la résilience de la Pma (Tableau 5.3).

La résistance de la phosphomonoesterase alcaline (Pmb) est significativement contrôlée par les 3 facteurs (Tableau 5.2). L'interaction significative S*R (F=57,79, p<0,001) indique que l'apport de ressource diminue la résistance de la Pmb à 4 cycles de stress hydriques de 56 % (Figure 5.8a). Cette diminution est résiliée après quatorze jours (Figure 5.8d). En outre, la figure 5.8d montre un pourcentage d'activité du témoin significativement plus élevé après 4 cycles qu'après un cycle de stress sans apport de ressource.

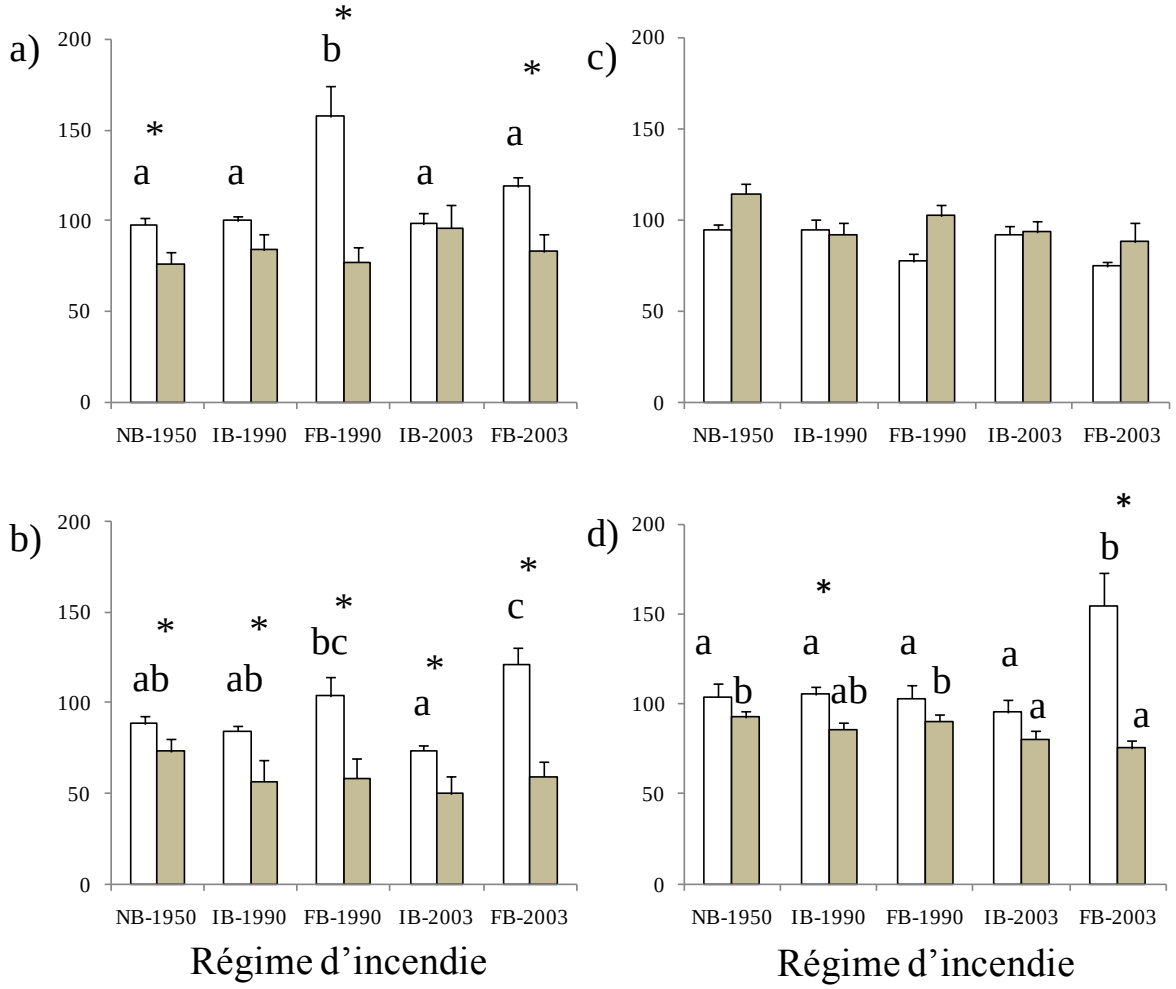


Figure 5.6 : Résistance de la Pma (a), de la pmb (b) et résilience de la Pma (c), de la Pmb (d). Les barres blanches correspondent aux sols non fertilisés et les grises aux sols fertilisés. L'astérisque (*) indique une différence significative entre moyennes des sols non fertilisés et fertilisés ($p<0,05$, test de Student) et les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes ($p<0,05$, LSD de Fischer). Les barres verticales représentent les erreurs types.

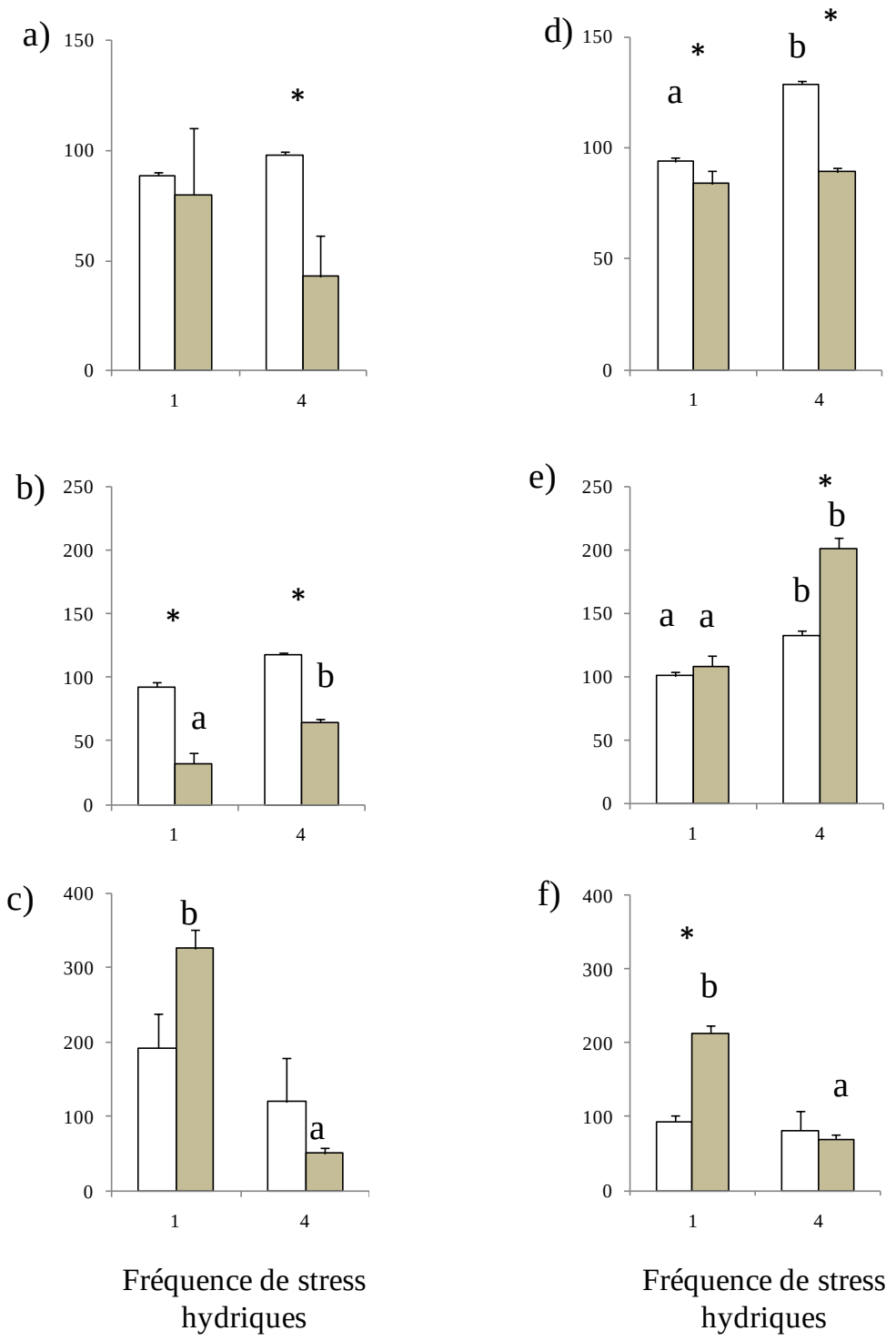


Figure 5.7 : Résistance de la Pmb (a), de la FDAse (b), de la cellulase (c) et résilience de la Pmb (d), de la FDAse (e) et de la cellulase (f). Les barres blanches correspondent aux sols non fertilisés et les grises aux sols fertilisés. L'astérisque (*) indique une différence significative entre moyennes des sols non fertilisés et fertilisés et les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes (p<0,05, test de Student). Les barres verticales représentent les erreurs types.

L'interaction significative I*S (Tableau 5.2 : F=2,52, p<0,05) indique une plus faible résistance à 4 cycles de stress pour les régimes NB-1950 et IB-1990 (Figure 5.9a). Finalement, l'apport de ressource diminue la résistance de la Pmb aux stress pour tous les régimes d'incendie (Figure 5.7b). Comme l'indique l'interaction significative I*R (Tableau 5.2 : F=16,4 ; P<0,001), ces diminutions s'estompent après 14 jours pour les sols NB-1950, FB-1990 et IB-2003 (Figure 5.7d).

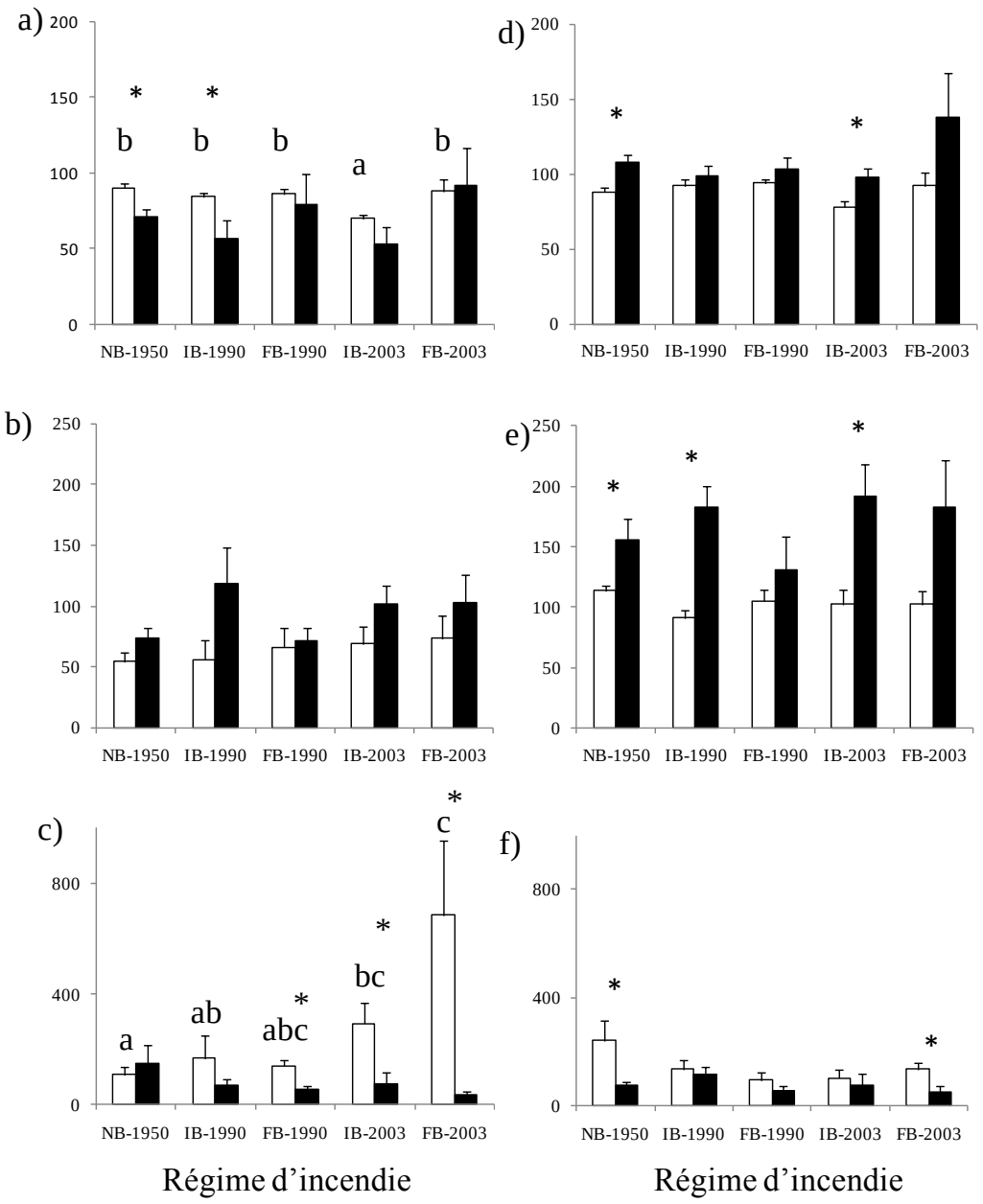


Figure 5.9 : Résistance et résilience des activités phosphomonoesterase alcaline (respectivement a et d), FDA hydrolases (b et e), et cellulases (c et f) à 1 cycle (barres blanches) et 4 cycles de dessiccation/ré-humectation (barres noires). L'astérisque (*) indique une différence significative entre les moyennes à 1 stress et 4 stress hydriques (p<0,05, test de Student) et les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes (p<0,05, LSD de Fischer). Les barres verticales représentent les erreurs types.

Les réponses de la phénol-oxydase (PO) 48h après les stress se traduisent par une augmentation de l'activité de 34,4% du témoin sans fertilisation et par une diminution de 33,5% après un apport de ressource (Tableau 5.3). Malgré les différences significatives de pourcentage d'activité entre NF et F, ces effets se sont estompés 14 jours après les stress (Tableau 5.3).

Concernant la FDAse, l'interaction significative S*R (F=11,5, P<0,001) (Tableau 5.2) indique que la différence de réponse de l'activité, 48h après 1 et 4 cycles, dépend de la ressource. L'apport de ressource a diminué la résistance de la FDAse de 64 % après 1 stress et de 45 % après 4 stress hydriques (Figure 5.8b). Quatorze jours après les stress, ces diminutions s'estompent atteignant 100% du témoin après un cycle et 200% du témoin après 4 cycles (Figure 5.8e). Les interactions significatives I*S (2,7, P<0,05) et S*R (F=13,3, P<0,001) (Tableau 5.2) indiquent que la réponse des activités FDAse 14 jours après les stress dépendent du régime d'incendie et de la ressource. Les pourcentages d'activité du témoin sont significativement plus élevés entre 1 et 4 cycles de stress pour les régimes NB-1950, IB-1990 et IB-2003 (Figure 5.9e). Les pourcentages d'activité mesurés 48h après 1 cycle de stress (Figure 5.9b) ont augmenté après 14 jours pour atteindre 100% en moyenne pour tous les régimes d'incendies (Figure 5.9e). En outre, après 4 cycles de stress, les pourcentages d'activité mesurés 48h (Figure 5.9b) ont augmenté après 14 jours jusqu'à 200% du témoin pour les sols IB-1990 et IB-2003 (Figure 5.9e).

La résistance de l'activité cellulase est significativement contrôlée par le nombre de stress hydriques dont les effets dépendent à la fois de l'apport de ressource (S*R : F=7,37, p<0,01) et du régime d'incendie (I*S : F=3,90, p<0,01) (Tableau 5.2). La figure 5.8c montre que la fertilisation a induit une très forte augmentation de l'activité cellulase après un cycle (325%) et une diminution de 50% du témoin après 4 cycles. Après quatorze jours de résilience, les pourcentages d'activité ont tous diminué sauf après 4 cycles et un apport de ressource (Figure 5.8f). Par ailleurs, un cycle de stress augmente significativement l'activité cellulase et ceci d'autant plus fortement que le régime d'incendie est fréquent et récent (Figure 5.8c). Inversement, nous avons mesuré une diminution de l'activité cellulase après 4 cycles des stress particulièrement importante pour FB-2003 (Figure 5.9c). Les différences de résilience après 1 et 4 cycles de stress dépendent du régime d'incendie (Tableau 5.2). Ces différences sont significatives pour les régimes NB-1950 et FB-2003 (Figure 5.9f). L'activité cellulase des sols NB-1950 continue d'augmenter 14 jours après un cycle (de 107% après 48h à 241%) tandis que celle des sols FB-2003 diminue jusqu'à 133% du témoin après 14 j.

5.4. Discussion

La réalité du changement climatique que subit la Terre, en particulier l'augmentation de la température moyenne à sa surface, n'est plus mise en doute. Dans le bassin méditerranéen, les modèles météorologiques prévoient une augmentation des sécheresses estivales et une augmentation des températures (Gibelin et Déqué, 2003). Cette tendance globale serait accompagnée par une plus grande fréquence d'événements extrêmes de type pluie torrentielle et sécheresse (GIEC, 2007). Ces événements extrêmes, leur intensité (durée, fréquence…), et la soudaineté avec laquelle ils arrivent sont de nature à affecter directement la microflore du sol en abondance, en diversité et en fonctionnalités et, probablement au-delà de certains seuils, à ne pas permettre un retour à un état proche de l'état initial (Bouchet, 2008). Les régimes d'incendies répétés ou récents, en affectant les communautés microbiennes en taille, en activité et en diversité fonctionnelle (C.f. Chapitre 3) et, en diminuant la quantité et la qualité des ressources organiques et minérales (C.f. Chapitre 3 et 4), sont alors supposés être de nature à abaisser les seuils de tolérance des communautés microbiennes et de leurs fonctions aux stress hydriques.

5.4.1. Effets des cycles de dessiccation/humectation sur les fonctions cataboliques microbiennes des sols non fertilisés

Le stress hydrique que nous avons appliqué est constitué de deux phases ; une phase de dessiccation de 5 jours et une phase de ré-humectation de 48h (cycle D/H). Nous avons mesuré une augmentation de la respiration basale microbienne quarante huit heures après le début de la phase de ré-humectation d'un seul cycle D/H. L'amplification de l'activité respiratoire après un stress de type dessiccation/humectation est une réponse courante qui a été mesurée par de nombreux auteurs (Bottner, 1985 ; Schimel *et al.*, 1999 ; Fierer et Schimel, 2002). Ce processus, qui est nommé 'priming effect' en anglais, est dû en grande partie à la minéralisation des micro-organismes morts par les survivants. Dans un sol humide, un équilibre osmotique se crée entre la phase aqueuse du sol et le cytoplasme de la cellule bactérienne ou fongique. Le desséchement du sol déshydrate les cellules et les contraint à produire et à concentrer des osmolytes (acides aminés, carbohydrates) permettant de diminuer le potentiel osmotique du cytoplasme et donc de ralentir la plasmolyse de la cellule (Halverson *et al.*, 2000 ; Borken et Matzner, 2009). Au-delà d'un certain seuil de dessiccation, les micro-organismes les plus sensibles meurent et les plus résistants survivent au stress en

formant des endospores ou des kystes. La ré-hydratation rapide du sol provoque une turgescence soudaine des cellules qui est engendrée par les fortes concentrations en osmolytes synthétisés lors de la dessiccation. Les cellules sont alors détruites et le contenu cellulaire (e.g. carbohydrates, acides aminés, amides et nucléotides) est déversé dans le sol. Cet apport en carbone labile est rapidement minéralisé par les bactéries survivantes au stress (Fierer et Schimel, 2002) et peut stimuler la minéralisation du carbone stable des sols (Wu et Brookes, 2005). La réduction de la biomasse active mesurée après un seul cycle D/H, probablement concomitante à une libération de composés intracellulaires labiles, semble confirmer l'amplification de la respiration basale par le processus de 'priming effect'. Nous suggérons par ailleurs que l'application d'un seul cycle D/H favorise l'émergence de populations microbiennes à croissance rapide, en d'autre terme de populations zymogènes caractérisées par une stratégie adaptative de type r. Cette hypothèse est confirmée par l'augmentation après un cycle D/H du quotient métabolique (Anderson et Domsch, 1990), c'est-à-dire de la quantité de carbone allouée à la production d'énergie par unité de biomasse. Ces stratèges r bénéficieraient alors de la libération de ressources labiles et expliqueraient en partie l'amplification de la respiration basale que nous avons mesurée après ce stress. En région méditerranéenne, les périodes de stress hydriques sont longues et intenses alors que les phases de ré-humectation sont rapides et de courte durée. Ainsi, nous avons appliqué une phase de stress hydrique plus longue que la période de ré-humectation (5 jours contre 2 jours respectivement). Ceci pourrait expliquer la faible augmentation de la respiration que nous avons mesurée en comparaison de celle pouvant atteindre jusqu'à 470% du témoin dans certains travaux (Fierer et Schimel, 2002).

Par ailleurs, si un seul stress hydrique a augmenté l'activité respiratoire microbienne, cette dernière a été significativement réduite par rapport au témoin après l'application de 4 cycles D/H successifs (Tableau 5.3). Franzluebbers *et al.* (1994) puis Mikha *et al.* (2005) ont observé une atténuation progressive des taux de minéralisation du C au cours de 4 cycles D/H sans que celle-ci ne descende en dessous du niveau du sol non stressé. Ces travaux suggèrent que cette diminution de l'activité respiratoire microbienne pourrait être induite par une réduction de la taille des communautés microbiennes (van Gestel *et al.*, 1993), par une perte de capacité à dégrader les substrats complexes (Magid *et al.*, 1999), par une réduction de la disponibilité de la ressource (Fierer et Schimel, 2002) ou encore, par un changement de la composition des communautés (Franzluebbers *et al.*, 1994). Dans nos travaux, l'application de 4 cycles D/H n'a engendré ni de perte significative de biomasse active (RI), ni de modification significative des caractéristiques chimiques des sols (Figures 5.1 et 5.2). Ces

deux facteurs ne peuvent pas, de fait, expliquer la diminution de l'activité respiratoire. Nous suggérons alors que les cycles D/H répétés affectent les populations zymogènes dominantes après le premier cycle D/H en faveur de populations à stratégie adaptative de type K moins sensibles à la dessiccation (Bottner, 1985). Ces stratèges K possèdent une activité métabolique plus faible, un développement lent et occupent en général des niches écologiques spécialisées (Cole, 1954). La diminution du quotient métabolique que nous avons mesurée entre 1 et 4 cycles D/H (Figure 5.3, montre une modification d'efficacité catabolique et donc tend à confirmer cette hypothèse. Le changement de structure fonctionnelle des communautés microbiennes (Figure 5.4) après 4 cycles met également en évidence une modification des capacités cataboliques des communautés stressées (Schimel *et al.*, 1999) qui pourraient être de nature, selon les hypothèses de Mikha *et al.* (2005), à engendrer une diminution des taux de minéralisation du C, donc de l'activité respiratoire. Nos résultats ne nous permettent pas d'exclure une dernière cause possible de la réduction de l'activité respiratoire après 4 cycles de stress hydriques. En effet, Denef *et al.* (2001) a montré que la libération de ressource résultait d'un faible nombre de stress hydriques et pouvait disparaître après 2 stress hydriques, principalement à cause de l'augmentation de l'hydrophobicité des agrégats devenus résistants à la ré-humectation (Cosentino *et al.*, 2006). Ainsi, 4 cycles D/H successifs peuvent avoir appauvri ces apports en ressources labiles à un niveau si faible qu'ils ne permettraient plus d'induire la minéralisation des matières organiques stables du sol, c'est-à-dire le 'priming effect'.

Si un seul stress hydrique peut engendrer une faible perte de carbone due à la minéralisation des substrats labiles et des matières organiques du sol, Schimel *et al.* (2007) suggèrent que la répétition des stress hydriques entrainerait une perte importante de carbone de l'écosystème. Les micro-organismes qui subissent des stress réallouent leur énergie attribuée préalablement à leur croissance (biomasse) vers la synthèse de molécules protectrices qu'elles accumulent dans leur matériel intracellulaire. Les micro-organismes doivent donc trouver de la ressource supplémentaire pour s'acclimater aux stress d'autant plus que la fréquence des stress augmente et entraine une perte de carbone par minéralisation à chaque phase de ré-humectation. En revanche, l'accumulation de solutés intracellulaires coûte énormément d'énergie et l'acclimatation des micro-organismes pourrait être limitée dans les sols incendiés méditerranéens par la disponibilité des ressources.

5.4.2. Effets de l'histoire d'incendie sur la stabilité microbienne aux stress hydriques

Pour comparer la stabilité fonctionnelle des sols marqués par différents régimes d'incendie, nous avons évalué le pourcentage de changement des activités respiratoires basales et induites, et des activités phosphomonoesterase acides et alcalines, phénol-oxydases, FDA hydrolases, et cellulases, des sols stressés par rapport aux sols 'témoins', 48h après la dernière ré-humectation, pour une mesure de résistance, puis après 14 jours d'incubation en conditions stables et optimales pour une mesure de la résilience.

Nos résultats ont montré une augmentation de la résistance fonctionnelle des sols récemment incendiés lorsque ceux-ci ont subi des feux fréquents. Ceci est démontré par des activités de respiration basale, phosphomonoesterase acides et alcalines et cellulases des sols FB-2003 qui ont été moins affectées par les cycles D/H, voire pour certaines qui ont été augmenté en proportion des sols non stressés. Ces résultats, qui s'opposent à notre hypothèse initiale, sont d'autant plus significatifs que ce régime d'incendie récent et fréquent s'accompagne d'une forte réduction de biomasse microbienne (C.f. Chapitres 3 et 4 de ce document) et donc d'une résistance spécifique très élevée (i.e. résistance par unité de biomasse initiale ; données non montrées). L'efficacité d'utilisation des ressources, en d'autres termes, la stratégie démographique des micro-organismes évaluée par le calcul du quotient métabolique, est un facteur potentiel pouvant contrôler la stabilité microbienne aux stress hydriques (Bottner, 1985). L'absence de modification de quotient métabolique à la suite des incendies (Chapitre 3) nous oblige cependant à rejeter cette hypothèse. En outre, la mortalité des espèces sensibles au feu a pu favoriser la prolifération et l'activité des espèces résistantes, en diminuant la compétition et en facilitant leur accès aux ressources. Ceci peut conduire à des modifications de diversité et engendrer le développement de communautés particulièrement bien adaptées aux stress et présentant une importante stabilité fonctionnelle (Schimel *et al.*, 1999 ; Aarts et Nienhuis, 1999 ; Loreau, 2000). Artz *et al.* (2009) ont montré que les feux répétés en altérant la fraction labile de la matière organique et les nutriments, augmentaient la diversité génétique des champignons, alors que celle des bactéries diminue généralement après feu (Blagodatskaya et Anderson, 1998). Malgré leur plus grande sensibilité aux feux, le rôle des champignons dans la dynamique de retour des sols après feu a par ailleurs été démontré (Claridge *et al.*, 2009). De plus, les champignons seraient plus résistants aux stress hydriques grâce à leur paroi plus épaisse, plus rigide et une plus grande capacité d'osmorégulation de leur soluté (Fierer *et al.*, 2003 ; Schimel *et al.*, 2007). Ces communautés microbiennes des sols fréquemment incendiés maintiennent après un stress

hydrique des activités enzymatiques minéralisatrices importantes, voire souvent amplifiées comme le confirme les fortes valeurs de résistance des activités lignocellulolytiques, d'origine majoritairement fongique dans les sols forestiers (Baldrian *et al.*, 2006 ; Baldrian et Valaskova, 2008). Les champignons particulièrement efficaces pour dégrader la matière organique, utilisent leur énergie pour produire des enzymes d'autant plus si la ressource vient à manquer. L'augmentation de l'activité phénol-oxydase suite à un changement des conditions abiotiques peut avoir de fortes implications dans les processus de stockage du carbone des sols (Bardgett *et al.*, 2008). En outre, nos résultats suggèrent que l'alternance rapide des phases de dessiccation et de ré-humectation amplifierait les activités enzymatiques liées à la décomposition des matières organiques réfractaires à la dégradation et donc les pertes de carbone de l'écosystème.

Quatorze jours après les stress, nous avons mesuré une diminution, par rapport aux sols non stressés, mais également comparativement aux réponses observées après 48h, des activités respiratoires basales dans les sols incendiés d'autant plus élevée que les feux sont récents. La faible résilience de cette fonction des sols récemment incendiés pourrait provenir d'une perte de ressources disponibles après les incendies récents (C.f Chapitres 3 et 4). L'augmentation de l'aromaticité de la matière organique dans ces sols ne permettrait plus de soutenir une activité physiologique élevée (Fierer et Schimel, 2002) malgré une résilience de la biomasse active (RI).

Les effets du régime d'incendie sur la résilience des activités enzymatiques varient selon l'enzyme considérée. Si les stress hydriques affectent les communautés microbiennes, les enzymes extracellulaires qu'elles libèrent sont généralement faiblement affectées par la phase de dessiccation suggérant leur résistance, tandis que la ré-humidification des sols secs induit certaines fluctuations (Zornoza *et al.*, 2006). Une différence de stabilité entre les phosphomonoetérases acides (Pma) et alcalines (Pmb) a été observée. Les Pma, d'origines végétale et microbienne (Dinkelaker et Marschner, 1992) et les Pmb, essentiellement d'origine microbienne (Nakas *et al.*, 1987), sont des hydrolases répressibles qui reflètent la demande spécifique en phosphore de la biomasse microbienne et des plantes (Chen *et al.*, 2003). Les stress hydriques sont connus pour induire un flush en phosphore labile très rapidement après la phase de ré-humectation (Nguyen et Marschner 2005). Un « flush » de P inorganique, 48 h après l'application de nos stress pourrait donc, dans nos conditions expérimentales sans végétation, avoir réprimé les gènes codant pour la synthèse essentiellement des phosphatases d'origine microbienne (Pmb). Par la suite, ce « flush » en P disparaîtrait au bout de 14 jours (Nguyen et Marschner 2005), ce qui engendrerait un retour

rapide de l'activité pouvant dépasser celle du sol témoin, en cas de demande en P élevée, notamment pour les sols récemment et fréquemment incendiés. A l'opposé des activités cellulases, la FDA hydrolase a montré une forte capacité de résilience quel que soit le régime d'incendie et se traduisant par une activité supérieure aux sols témoins après 14 jours d'incubation. En outre, et inversement à l'activité cellulase, la résilience de la FDA hydrolase est d'autant plus élevée que le nombre de stress augmente. Nous suggérons que la forte résilience de la FDA hydrolase pourrait être attribuée à la forte diversité des estérases réalisant cette activité hydrolytique (lipases, glucosidase, phosphatases…) malgré une diminution de la diversité fonctionnelle par les feux récurrents (Chapitre 4). Ces résultats révèlent la forte redondance fonctionnelle des communautés microbiennes des sols fréquemment incendiés et confirment ainsi les travaux de Schimann (2007) réalisés dans un contexte de sols pollués. A l'opposé, l'hydrolyse de la cellulose est supportée par un cellulosome qui est un complexe d'enzymes cellulolytiques (glycoside hydrolases, polysaccharide lyases, carboxyle estérases…). Contrairement aux enzymes hydrolytiques de la FDA, les différentes enzymes du cellulosome sont complémentaires et se succèdent dans l'hydrolyse de la cellulose. Ce complexe enzymatique, d'origine majoritairement fongique bien que produite abondamment par les formes sporulées bactériennes, est produite entièrement par une même cellule.

5.4.3. Effets de l'apport de ressources sur la stabilité microbienne aux stress hydriques

L'apport d'un mélange de cellulose et d'azote inorganique a profondément modifié les propriétés chimiques et les caractéristiques microbiennes des sols incendiés indépendamment du régime de feux (Tableau 5.1). L'apport de ressource a stimulé la biomasse microbienne suggérant que les disponibilités en carbone et/ou en l'azote peuvent être limitantes (Vance et Chapin, 2001) dans les sols méditerranéens impactés ou non par les incendies. Le rôle d'un nutriment limitant dans le fonctionnement des écosystèmes a fréquemment été étudié par des expérimentations de fertilisation (Fog, 1988 ; Carreiro *et al.*, 2000 ; Saiya-Cork *et al.*, 2002). Les réponses des communautés microbiennes à l'apport d'azote sont très variables en fonction de l'écosystème étudié (Saiya-Cork *et al.*, 2002). L'augmentation du quotient métabolique suggère une modification par la ressource de structure des communautés microbiennes en faveurs de stratèges-r (Blagodatskaya *et al.*, 1998). L'absence d'augmentation des activités FDA hydrolases indique que l'augmentation de biomasse ne s'accompagne pas

nécessairement d'une amplification de l'activité hydrolytique totale, mais probablement d'une réallocation vers la production d'enzymes impliquées dans la minéralisation de la ressource la plus abondante et la plus facile d'accès (Allison *et al.*, 2005). Nous avons mesuré une très forte diminution des activités phénol-oxydases après apports, alors que les cellulases sont très fortement amplifiées pour hydrolyser la cellulose cristalline en excès. Fog (1988) a effectivement observé que les effets d'un apport d'azote inorganique sur la dégradation de la litière des écosystèmes forestiers décidus, dépendaient de la qualité de la matière organique et particulièrement de sa résistance à la dégradation. D'une manière générale, les activités enzymatiques cellulolytiques, impliquées dans la dégradation d'une litière riche en cellulose, augmentent avec une fertilisation en azote inorganique. Inversement, les activités enzymatiques lignolytiques, impliquées dans la dégradation d'une litière riche en lignine, diminuent avec la disponibilité de l'azote. Pour expliquer cette observation, Fog (1988) précise que la synthèse des phénol-oxydases par les champignons, organismes supposés être prépondérants dans la dégradation de la lignine, est réprimée par l'azote. Récemment, les résultats de Saiya-Cork *et al.* (2002) ont montré que la répression des activités oxydatives par l'azote pouvait être étendue aux bactéries. Par ailleurs l'apport d'une ressource carbonée unique n'a pas modifiée la diversité catabolique dont la valeur dépend de la biomasse (Preston-Mafham *et al.*, 2002) et de la disponibilité de la ressource qui permet, lorsqu'elle est abondante, une meilleure régularité d'utilisation des substrats et donc des valeurs de diversité fonctionnelle plus élevées (Degens *et al.*, 2001).

Dans cette étude, la résistance de la biomasse active à un cycle de stress hydrique, a été améliorée par l'apport de ressource (Wardle, 1998). En effet, la production de molécules protectrices contre le stress hydriques est très coûteuse en énergie, et nécessiterait une quantité de ressource supérieure à celle requise pour maintenir l'activité physiologique des communautés microbiennes (Schimel *et al.*, 2007) et à celle disponible dans les sols incendiés. Cependant, comme l'atteste la diminution de résilience des activités respiratoires après un stress, l'apport de ressource a probablement modifié les communautés microbiennes les rendant plus résistantes aux stress mais peu résilientes. Nous suggérons dans ce travail que cette relation négative entre la résistance et la résilience (Orwin *et al.*, 2006) dépendrait donc de la disponibilité des ressources. Inversement, une forte histoire de stress (i.e. 4 cycles) modifie ces relations au profit de fonctions respiratoires à la fois résistantes et résilientes, suggérant d'éventuelles modifications de la structure des communautés aux potentialités cataboliques élevées ou diversifiée (Schimel *et al.*, 1999).

Les phosphatases, qui ont été amplifiées à la suite de l'apport ressource probablement en réponse à l'accroissement de la biomasse microbienne et donc de la demande en phosphore inorganique, ont également perdu de la stabilité aux stress hydriques. Nous suggérons que la forte mortalité microbienne a permis une libération brutale d'une grande quantité de P inorganique disponible dans le sol (Nguyen et Marschner, 2005) réprimant la synthèse de phosphatases. Ces auteurs ont montré que ce « flush » était toutefois d'assez courte durée et pourrait expliquer la résilience des phosphatases qui seraient à nouveau induites, reflétant la demande microbienne en P (Chen *et al.*, 2003). Les activités phénol-oxydases et FDA hydrolases se sont avérées faiblement résistantes en présence d'une ressource abondante. Les apports de ressource ont abaissé le ratio C/N des sols et augmenté leur pH (Tableau 5.1). Ceci a pu défavoriser l'activité des champignons, principalement responsables de l'activité des phénol-oxydases (Baldrian, 2006), dont l'efficacité dans la décomposition de la matière organique dépend d'un C/N plus élevé que celui des bactéries. En accord avec nos résultats, Sinsabaugh *et al.* (2002 ; 2005) ont montré que l'entrée d'azote dans les sols, résultant dans une diminution du C/N, réduisait l'activité des phénol-oxydases. Nos apports composés uniquement de cellulose et d'azote inorganique ont par ailleurs pu diminuer la diversité des enzymes impliquées dans l'hydrolyse de la FDA et ainsi une perte de leur capacité de résistance aux stress.

Nous avons émis l'hypothèse que l'apport de ressource contrôlait la stabilité microbienne dépendamment de l'histoire d'incendies. Les feux récents et fréquents sont supposés affecter la stabilité des communautés microbiennes soumises aux stress hydriques par une réduction de la disponibilité de la ressource. Les nombreuses interactions significatives I*R (Tableaux 5.2 et 5.4) montrent que le régime de feu peut contrôler la stabilité des fonctions microbiennes en modifiant la qualité et donc la disponibilité des ressources. En effet, les phosphomonestérases acide et alcaline ont présenté, dans les sols non fertilisés, une résistance aux stress d'autant plus élevée que le régime d'incendie est fréquent. En outre, l'apport de ressource à diminué cette résistance, quel que soit le régime d'incendie, mais résultant en une plus forte différence de résistance entre les sols fréquemment incendiés fertilisés et non fertilisés. Ces enzymes, comme indiqué précédemment, peuvent être réprimées par un « flush » de P inorganique libéré après le stress hydrique par la lyse cellulaire. Les incendies récents et fréquents ont fortement diminué la biomasse microbienne en affectant la disponibilité des ressources (Chapitres 3 et 4). Nous suggérons ainsi que la forte résistance de ces activités dans ces sols reflète un « flush » en P limité par la biomasse et une plus faible répression enzymatique.

5.5. Conclusions

Les stress hydriques que nous avons appliqués en conditions contrôlées sous la forme de cycles de dessiccation et de ré-humectation ont réduit la biomasse microbienne active de prêt de 20%. Notre étude a montré une stabilité de cette biomasse active, exprimée en pourcentage relatif d'un sol non stressé, indépendante du régime d'incendie, donc du niveau initial de biomasse, de l'histoire de stress et de la ressource. La mortalité microbienne à engendré une augmentation de l'activité respiratoire des cellules survivantes d'autant plus élevée que leur histoire de vie est caractérisée par une répétition des incendies. L'application de 4 stress hydriques successifs a cependant réduit considérablement ce processus que l'on nomme ''priming effect''. Nos résultats confirment ainsi qu'un seul stress affecte l'efficacité métabolique de la communauté microbienne probablement en modifiant sa composition en faveur d'espèces zymogènes caractérisées par un taux croissance élevé et une faible résistance aux stress. Vis-à-vis de ces populations à stratégie de croissance de type 'r', la répétition des stress hydriques se traduirait par un nouveau contexte sélectif. Les bactéries zymogènes en plein développement seraient alors affectées au profit des quelques espèces stratèges K, survivantes aux incendies et plus résistantes aux stress. Ces modifications populationnelles, qui devront être vérifiées par des techniques moléculaires, ont par ailleurs été accompagnées d'une augmentation de la stabilité de l'activité des FDA hydrolases. Nos résultats révèlent ainsi l'importante redondance fonctionnelle des populations à l'histoire de vie fortement perturbée et stressée.

A une échelle éco-systémique, nos résultats suggèrent que le réchauffement climatique prévus dans les décennies et siècles à venir, en renforçant la récurrence des incendies et des stress hydriques en région méditerranéenne, pourrait modifier les processus fonctionnels actuels supportés par les communautés microbiennes telluriques. Une augmentation des activités minéralisatrices dans des sols appauvris en matières organiques pourrait épuiser à long terme les stocks en nutriments et augmenter la vulnérabilité des écosystèmes Méditerranéens.

Chapitre 6

RESTAURATION DES SOLS INCENDIÉS PAR DES APPORTS DE COMPOSTS

Les résultats acquis à ce stade de la thèse montrent une dégradation de certaines propriétés chimiques et microbiologiques des sols incendiés qui peuvent persister, lorsque le régime est trop fréquent, et rendre les communautés microbiennes plus vulnérables aux stress du changement climatique. Les écosystèmes de référence, c'est-à-dire ceux en équilibre avec l'histoire contemporaine d'incendie, ainsi que les écosystèmes dégradés par des feux trop fréquents ou trop récents ont été identifiés et la qualité de leur sol caractérisée. Ce sixième chapitre présente les résultats d'une expérimentation *in situ* de restauration de la qualité chimique et microbiologique des sols par des apports de composts. La sélection des parcelles nécessitant des apports, celle des composts, en particulier leur maturité, et la définition des objectifs de restauration ont été raisonnées sur la base des résultats précédents.

6.1. Introduction

La réglementation européenne relative à la gestion des déchets organiques subit depuis quelques décennies des transformations intenses. La Directive européenne n°86/278/CEE du 12/06/1986 relative à la protection de l'environnement et notamment des sols, lors de l'utilisation des boues d'épuration en agriculture a été arrêtée pour encourager et réglementer leur utilisation de manière à éviter leurs effets nocifs sur le sol, la végétation, les animaux et l'homme. Cette réglementation interdisait alors l'utilisation de boues non traitées à moins qu'elles ne soient incorporées au sol, évitant ainsi leur contact direct avec les produits de l'agriculture. Par ailleurs, la directive exigeait de tenir compte des besoins réels des plantes en éléments nutritifs et d'évaluer l'innocuité de ces déchets vis-à-vis des sols et des eaux souterraines. Une révision de cette Directive, arrêtée en 2008 (n°2008/98/CE), préconise la transformation des boues en compost et étend l'utilisation de ce nouveau produit à la fertilisation des espaces verts urbains, en sylviculture et pour la réhabilitation de sites. L'augmentation de la production de compost va de pair avec la nécessité de leur trouver de nouvelles voies d'utilisation. L'apport de compost après un incendie pourrait s'avérer être un moyen efficace de restaurer la qualité des sols. De plus, les amendements sur sol incendié constituent une voie de valorisation des produits résiduels organiques, s'intégrant dans la mise en place d'une gestion raisonnée de ces produits. La pérennisation de cette filière nécessite cependant l'évaluation de l'efficacité des apports et l'indentification des conditions optimales de mise en œuvre (i.e. maturité du produit, stock en éléments nutritifs apportés…) et l'assurance de l'innocuité environnementale des produits.

Les effets d'un apport de compost sur les sols ont été étudiés dans différents contextes agronomiques (Crecchio *et al.*, 2004 ; Adani *et al.*, 2007), forestiers (Borken *et al.*, 2002) ou de sols méditerranéens dégradés (Caravaca *et al.*, 2003) et incendiés (Guerrero *et al.*, 2000, 2001 ; Larchevêque *et al.*, 2005 ; Kowaljow et Mazzarino, 2007). L'apport de compost se traduit généralement par un enrichissement en carbone, en azote et en phosphore organique et minéral du sol (Larchevêque *et al.*, 2005 ; Pascual *et al.*, 1997 ; Ros *et al.*, 2006). Cependant le niveau d'enrichissement et sa durée dépendent de la qualité du compost utilisé (Giusquiani *et al.*, 1995 ; Guerrero *et al.*, 2001). Un des effets bénéfiques de ces apports est d'augmenter la capacité des sols à retenir l'eau nécessaire au fonctionnement microbien (Diaz *et al.*, 1994) notamment par l'augmentation de la porosité des sols (Giusquiani *et al.*, 1995) mais également grâce à la forte capacité des composts à retenir l'eau (Serra-Wittling *et al.*, 1995). La stabilité des agrégats peut être renforcée par l'apport de lipides qui diminuent leur mouillabilité (Paré *et al.*, 1999) et par l'apport de substances humiques et de polysaccharides microbiens aux pouvoirs agrégatifs (Robert et Chenu, 1992 ; Gerzabek *et al.*, 1995). Concernant l'activité biologique des sols, l'apport de matières organiques labiles augmente rapidement la biomasse microbienne, la respiration basale et le quotient métabolique (qCO2) (Pascual *et al.*, 1997 ; Saison *et al.*, 2006). Ros *et al.* (2003) rapportent également une augmentation durable de certaines activités enzymatiques impliquées dans les cycles du C et du N. Un apport de compost dans un sol riche en carbone stimule l'immobilisation des formes inorganiques de l'azote et limite la nitrification tandis que dans un sol pauvre en nutriments, cet apport stimule la minéralisation nette de l'azote (Han *et al.*, 2004). L'apport de compost peut également modifier la composition des communautés microbiennes des sols (Bastida *et al.*, 2008), à la fois parce que l'abondance des ressources peut favoriser certaines populations autochtones et leurs activités et que le compost constitue une source abondante de micro-organismes allochtones. Cependant, Saison *et al.* (2006) rapportent que les populations natives du compost, habituées à des conditions particulières (pH, ressource et température), survivent difficilement dans les sols et ne soutiennent pas l'augmentation des activités minéralisatrices qui serait alors attribuée essentiellement aux communautés autochtones.

Concernant les sols méditerranéens incendiés, les travaux ont essentiellement porté sur l'évaluation des effets de doses variables sur les propriétés physico-chimiques des sols (Guerrero *et al.*, 2001 ; Larchevêque *et al.*, 2005). Les effets des composts sur le fonctionnement microbien de ces sols, naturellement pauvres en matière organique et contraints par un climat sévère, sont méconnus (Guerrero *et al.*, 2000) et aucun travail n'a évalué les effets de composts de différentes maturités. Pourtant, dans un contexte agricole,

Sánchez-Monedero *et al.* (2004) ont montré que seul un compost immature augmentait durablement l'activité et la biomasse microbienne. En revanche, Kowaljow et Mazzarino (2007) ont montré que l'apport sur un sol récemment incendié de deux composts de qualité chimique différente (compost de déchets végétaux et compost de la fraction organique des déchets municipaux) induisait une augmentation similaire des activités minéralisatrices microbiennes des sols. Les feux répétés appauvrissent les sols en matière organique et en nutriments, mais ces modifications sont d'autant plus importantes que la fréquence d'incendie augmente (Chapitre 4). Par conséquent, les effets positifs d'un apport de compost sont supposés dépendre de leur qualité (i.e. maturité) et adaptés au niveau de dégradation du sol, donc à l'histoire d'incendie.

Dans cette étude, l'effet d'un apport de composts de boues d'épuration urbaines et de déchets verts sur la qualité des sols a été étudié *in-situ* sur des sols fréquemment incendiés en croisant 3 niveaux de maturité (3 semaines, 3 mois et 9 mois) et 3 temps depuis le dernier feu (10 mois, 5 ans et 18 ans). Nos objectifs étaient i) d'évaluer l'efficacité d'apport de composts au cours du temps sur la restauration de la qualité physico-chimique et microbiologique de sols méditerranéens très récemment incendiés, ii) d'évaluer l'efficacité de la qualité d'un compost (i.e. maturité) en fonction de l'état de perturbation de l'écosystème (i.e. régime d'incendie) pour restaurer la qualité chimique et microbiologique. Les composts les plus immatures et riches en matière organique facilement minéralisable sont supposés être les plus adaptés pour la restauration des sols les plus impactés (i.e. faible ressources). Ces apports permettraient de redynamiser rapidement les activités microbiennes par des apports de ressource labile. En revanche, un compost plus mature et donc contenant une matière organique plus stable est supposé fournir plus lentement et plus durablement de la ressource et pourrait être plus adapté à des sols moins impactés.

6.2. Matériels et méthodes

6.2.1. Régimes d'incendies étudiés

Dans cette étude nous avons sélectionné quatre régimes d'incendies parmi ceux qui caractérisent l'écosystème de référence et les écosystèmes dont la qualité chimique des sols et

la dynamique de retour des activités microbiennes sont fortement altérées (Cf. Chapitres 3, 4 et 5). Ainsi nous avons considéré les régimes :

- **NB-1950** regroupant 3 parcelles indépendantes non brûlées depuis au moins 1950 et caractéristique de l'écosystème de référence,
- **FB-1990** regroupant 3 parcelles indépendantes ayant subi de nombreux feux (4) dont le dernier a eu lieu en 1990,
- **FB-2003** regroupant 3 parcelles indépendantes ayant subi de nombreux feux (4) dont le dernier a eu lieu en 2003,
- **FB-2007** regroupant 3 parcelles indépendantes ayant subi de nombreux feux (4) dont le dernier a eu lieu en 2007. Ce régime a été introduit dans le plan d'expérience suite aux feux qui se sont produits après le début de cette étude et n'ont donc pas fait l'objet d'évaluation dans les chapitres précédents. D'après les simulations des valeurs de WHI (Chapitre 4), il fait cependant partie des régimes fortement perturbateurs.

6.2.2. Origine, choix et caractéristiques des composts utilisés

Les composts utilisés dans cette étude sont des composts de boues de station d'épuration issues du traitement des eaux usées et de déchets verts. Ces composts ont été fournis par le centre de compostage d'Ensuès-la-Redonne (Société Biotechna, Bouches du Rhône) qui utilise le procédé des andains. La proportion du mélange initial est de 2,5 volumes de broyat de déchets vert et d'écorce de pin pour 1 volume de boues. Ce mélange permet l'obtention d'un volume lacunaire d'environ 30 %, indispensable à la circulation de l'air. Le mélange est réalisé grâce à un chargeur, puis homogénéisé par retournements. Celui-ci est ensuite acheminé sur une dalle bétonnée équipée de drains, reliés à des ventilateurs permettant l'aération forcée des andains pendant les trois semaines des phases mésophile et thermophile. Les andains qui mesurent 10 m de long, 4 m de hauteur et 5 m de largueur, sont retournés 2 fois par mois pendant 6 à 9 mois.

Trois composts d'âge croissant ont été sélectionnés pour leurs différences de maturités physico-chimiques et microbiologiques, jugées sur la base des travaux de thèse de Remy Albrecht (2007). Nous avons ainsi retenu un compost âgé de 3 semaines (C1), un compost âgé de 3 mois (C2) et un compost âgé de 9 mois (C3).

Les principales caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques de ces 3 composts frais et criblés à 40 mm sont présentées dans le Tableau 6.1. Le compost C1 est caractérisé par une plus faible quantité de carbone et d'azote organique que les deux autres. La quantité de matière organique potentiellement résistante à la dégradation est nettement plus basse pour le compost C1, mais élevée et relativement proche entre C2 et C3. Les rapports C/N sont relativement proches toutefois avec des valeurs qui augmentent avec l'âge des composts alors que le pH alcalin diminue légèrement. Par ailleurs le compost C1 possède une conductivité électrique supérieure à 5 mS/cm indiquant une forte concentration en sels. Ces valeurs diminuent avec l'âge des composts. Le compost C3 présente les plus grandes proportions de matière organique riche en cellulose. Le compost C2 possède une grande proportion d'hémicellulose et de lignine. Ce dernier possède également le plus fort indice de stabilité biochimique (ISB) et fournirait la plus grande quantité de matière organique stable i.e. résistante à la dégradation sur le long terme. L'absorbance des spectres du moyen infra-rouge diminue avec l'âge des composts (Figure 6.1) indiquant une perte de la plupart des fonctions chimiques de la matière organique à l'exception des acides humiques (1420 cm^{-1}) entre les composts C1 et C2. Le compost C3 possède un ratio aromatiques+carboxyles/aliphatiques (1633 cm^{-1}/ 2920 cm^{-1}) supérieur aux composts C1 et C2 indiquant une matière organique plus stable. Le compost C3 possède la plus forte microflore totale et les champignons cultivables les plus abondants respectivement 10 fois et jusqu'à 100 fois plus abondant que pour les autres composts. Le compost C1 est clairement immature tandis que les composts C2 et C3 sont matures avec cependant des différences notables de caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques.

Par ailleurs, les teneurs en métaux lourds des composts sont régulièrement vérifiées par la société Biotechna (données non montrées) et respectent la norme NF U 44-095.

Tableau 6.1. : Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des 3 composts utilisés de maturité croissante C1 : immature (3 semaines), C2 : moyennement mature (3 mois) et C3 : mature (9 mois).

Variables	Méthodes	Compost 1	Compost 2	Compost 3
Physico-chimiques				
Carbone organique total (g/kg)	NF EN 13039	174	260	268
Azote total (g/kg)	NF EN 13654-2	14,1	20,0	20,0
Phosphore total (g/kg)	NF EN 13650	7,1	7,0	7,1
C/N		12,4	13	13,4
MO (%)	NFU 44-160	58,7	57,5	67,6
Fraction insoluble dans détergent neutre (NDF)*	Van Soest et Wine (1963)	52,4	60,5	58,1
Fraction insoluble dans détergent acide (ADF)*	Van Soest et Wine (1963)	44,3	52,5	51,7
Fraction soluble (SOL)*	Van Soest et Wine (1963)	47,6	39,5	41,9
Hemicellulose (HEM)*	Van Soest et Wine (1963)	8,1	8,0	6,5
Cellulose « vraie » (CEL)*	Van Soest et Wine (1963)	19,9	26,0	27,8
Lignine (LIC)*	Van Soest et Wine (1963)	24,3	26,5	23,8
Cellulose brute (CEW)*	Méthode Weende	36,5	37,2	42,9
Taux de carbone résiduel (Tr)*		41,6	44,0	50,0
ISB (proportion de la MO)	Linière et Djakovitch (1993)	0,36	0,53	0,37
MO (kg) potentiellement résistante à la dégradation fournit par 1 t pdt brut	Calcul Tr / ISB	244/117	253/266	338/215
Rapport C=C + C=O/Asym C–H	Haberhauer *et al.* (1998)	2,9	2,5	3,2
P_2O_5 (g/kg)		16,3	16,1	16,2
N -NO_3^- (g/kg)	Mulvaney (1996)	0,002	0,059	0,112
N -NH_4^+ (g/kg)	Keeney et Nelson (1982)	2,87	2,42	1,89
Potassium (g/kg)	NF EN 13650	4,3	6,6	6,6
Calcium total (g/kg)	NF EN 13650	36,4	68,8	64,3
Magnésium total (g/kg)	NF EN 13650	2,1	3,2	3,2
pH	eau 1/5	8,5	8,3	7,9
Résistivité (ohm.cm)	extrait aqueux 1/1,5	168	241	338
Conductivité (mS/cm)	extrait aqueux 1/1,5	5,95	4,15	2,96

Microbiologiques			
Dénombrement total[a] UFC/g MS	$1,75\ 10^{6}$	$1,78\ 10^{6}$	$1,72\ 10^{7}$
Dénombrement fongique[b] UFC/g MS	$2,23\ 10^{4}$	$5,9\ 10^{4}$	$1,19\ 10^{6}$

* En pourcentage de la MO ; [a] culture sur un milieu LPGA, [b] culture sur milieu malt.

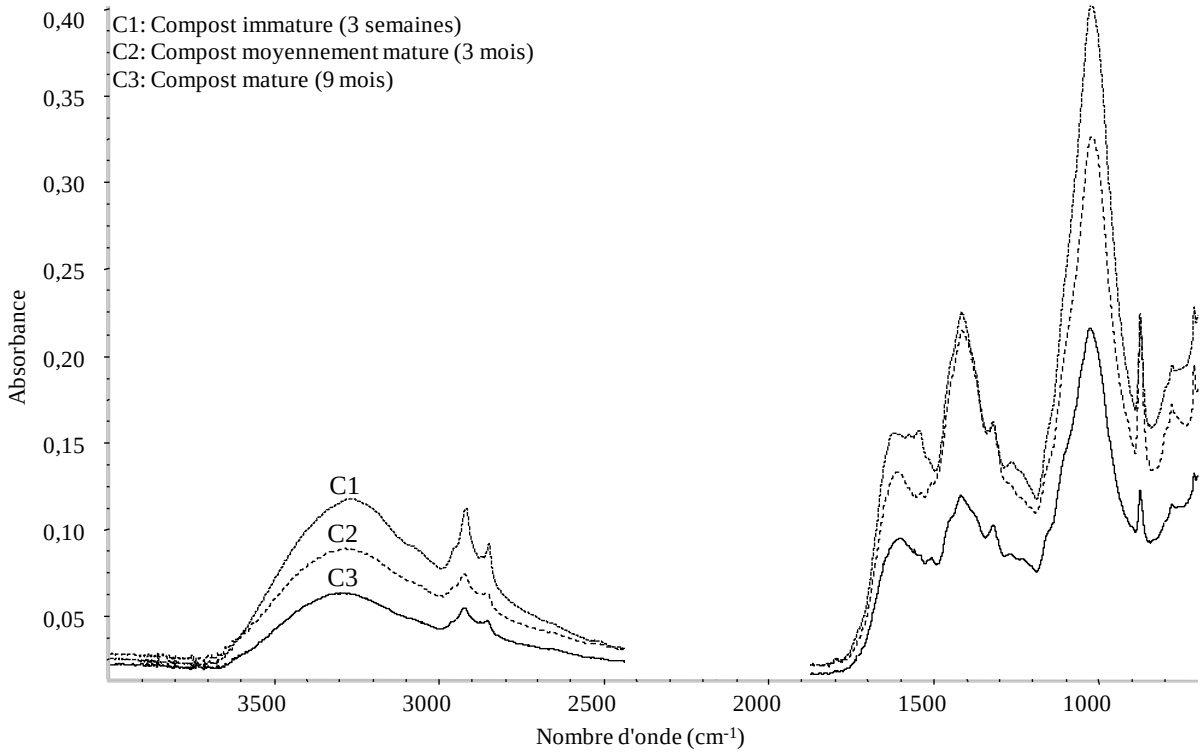


Figure 6.1. : Spectre du moyen infrarouge des 3 composts utilisés de maturité croissante C1 : immature (3 semaines), C2 : moyennement mature (3 mois) et C3 : mature (9 mois).

6.2.3. Mise en place de l'expérimentation *in situ* d'apport de compost et prélèvements

Sur chaque parcelle d'étude, à l'exception de celles du régime NB-1950, trois placettes expérimentales (Figure 6.2) ont été délimitées par des cadres en bois fixés espacés au minimum de 2 mètres sur une surface plane. En août 2008, les 3 composts frais criblés à 40 mm ont été apportés en mulch (dépôt de surface) à la dose équivalente de 70 tonnes par hectare de matières sèches sur ces placettes de 1 m^2 (soit 7 kg de compost équivalent sec par placette). Un grillage métallique a finalement été fixé sur chaque placette pour empêcher le retournement des sols par les sangliers.

Figure 6.2 : Illustration photographique d'une placette expérimentale d'apport *in situ* de compost.

Les échantillons de sols ont été prélevés en janvier puis en juin 2009 soit respectivement 5 et 10 mois après l'apport des composts. (0-5 cm de profondeur) sur les 3 placettes et une fois le compost en « mulch » retiré, à deux dates : A chaque date, l'horizon 0-5 cm a été prélevé sur 1/3 de chaque placette après avoir déplacé les composts. Pour chaque parcelle incendiée, un échantillon de sol non amendé ou 'témoin' a également été obtenu en mélangeant 10 échantillons prélevés aléatoirement (0-5 cm de profondeur) dans un rayon de 2 à 5 mètres autour des placettes expérimentales. Les sols ont été tamisés immédiatement à 2 mm et conservé à 4°C dans l'attente des analyses.

6.2.4. Analyses physico-chimiques des sols

La teneur en eau gravimétrique a été obtenue en soustrayant la masse d'un échantillon de sol séché au four (105°C, 24h) à celle de cet échantillon avant séchage. La teneur en eau à la capacité au champ a été obtenue en utilisant le protocole décrit par Saetre (1998).
Les teneurs en carbone organique total (COT) et en azote total (N) ont été déterminées en utilisant un analyseur élémentaire CN FlashEA 1112 (ThermoFisher) (NF ISO 10694, NF ISO 13878). Les teneurs en ions ammonium (µg de N-NH_4^+.g^{-1} de sol sec) et nitrate (µg de N-NO_3^-.g^{-1} de sol sec) ont été mesurées par colorimétrie selon les méthodes de Mulvaney (1996) et de Keeney et Nelson (1982), après leur extraction réalisée en accord avec le protocole de Mulvaney (1996). Le phosphore inorganique a été extrait par la méthode d'Olsen et Sommer (1982) modifiée par Sparrow *et al.*, (1990) puis dosé par colorimétrie (Murphy et Riley, 1962). Le pH a été mesuré sur une suspension de sol dans de l'eau distillé (1:2,5).

Les spectres du moyen infrarouge (MIR) des sols ont été obtenus selon le protocole décrit dans le chapitre 2. Les données MIR ont été tronquées de manière à n'utiliser que les domaines du spectre correspondant aux fonctions chimiques de la matière organique (Cf. Chapitre 2 Matériels et Méthodes). Ainsi les analyses multivariées ont été réalisées sur les domaines [1210-1820 cm^{-1}] et [2800-2970 cm^{-1}].

6.2.5. Analyses microbiologiques des sols

Les respirations microbiennes basales (RB) et induites par ajout de glucose (RI) ont été mesurées selon les protocoles décrits par Anderson et Domsch (1978). Les activités respiratoires sont exprimées en mg de C-CO_2 .g^{-1} de sol sec. Les taux de respiration induite ont été convertis en valeur de biomasse microbienne en utilisant l'équation de Beare *et al.* (1990). Le quotient métabolique (qCO_2) pour chaque échantillon a été calculé par le rapport respiration basale / biomasse microbienne. Les profils cataboliques des communautés microbiennes ont été déterminés par la méthode Biolog® Ecoplates (BIOLOG Inc., Hayward, CA) selon la méthode modifiée de Garland et Mills (1991).

L'activité phosphomonoestérase alcaline (Pmb) a été déterminée par la méthode de Tabatabai et Bremner (1969), l'activité uréase selon la méthode de Tabatabai et Bremmer (1972) et l'activité β-glucosidase par la méthode d'Eivazi et Tabatabai (1988). Les mesures ont été réalisées en tripliquats pour chaque échantillon de sol. Les mesures d'activités enzymatiques ont été exprimées en µmole de substrat hydrolysé ou oxydé par min (U) et par g

de sol équivalent poids sec ($U.g^{-1}$ de sol sec). Lorsque les activités étaient relativement faibles, elles ont été exprimées en $mU.g^{-1}$ de sol sec. L'ammonification et la nitrification nettes ont été mesurées selon la méthode de Hart *et al.* (1997) et la minéralisation nette du P selon celle de Sparrow *et al.* (1990).

La résistance et la résilience de l'activité respiratoire basale ont été évaluées après avoir soumis les échantillons de sols à un cycle de dessication/ré-humectaion. Après 2 jours de stabilisation à 23°C et à une teneur en eau équivalente à 60% de leur capacité au champ, chaque échantillon de sols a été subdivisé en 2 aliquotes. Les échantillons de la première aliquote ont été soumis à une période de dessiccation (50°C pendant 72 heures) suivie de leur réhumectation à 60% de leur capacité au champ avec de l'eau distillée stérile. Les échantillons de la deuxième aliquote ont été maintenus dans les conditions de stabilisation pendant 250 heures consécutives. Ces échantillons ne subissant pas d'assèchement seront nommés T et constitueront les sols témoins non stressés. La respiration basale des sols stressés et des sols témoins a été mesurée 10h (mesure de la résistance) et 174 heures (mesure de la résilience) après la réhumectation. Pendant la période de résilience, les échantillons ont été conservés dans les conditions de standardisation (23°C, 60% de leur capacité au champ). La résistance et la résilience de la respiration basale a été exprimée en pourcentage de l'activité respiratoire du sol témoin.

6.2.6. Analyses statistiques

L'effet d'apport de compost sur les propriétés phyico-chimiques et microbiologiques des sols récemment incendiés a été étudié par une ANOVA 1 facteur pour les 2 périodes considérées. Le test post-hoc des moindres différences de Fisher (LSD pour 'least significant differences') a été utilisé pour comparer les moyennes des sols FB-2007, FB-2007CP (compostés) et NB-1950 à chaque période. Par ailleurs, les effets du régime d'incendie (I), de la qualité du compost (C) (i.e. maturité) et du temps après l'apport des composts (T), et de leurs interactions, sur la qualité chimique et microbiologique des sols ont été analysés par une ANOVA à 3 facteurs sur le logiciel Statistica 6.0. Les effets principaux et les interactions des facteurs sur 2 niveaux sont présentés dans le Tableau 6.4. Le test post-hoc des moindres différences de Fisher (LSD pour 'least significant differences') a été utilisé pour comparer les moyennes. Les effets des composts sur les profils cataboliques et les caractéristiques spectroscopiques des sols (SMIR) ont été analysés par ACP. L'analyse de variance multivariée par permutation (PERMANOVA) a été utilisée pour tester les effets des sources

de variations étudiées sur les profils cataboliques et les spectres MIR. Des régressions multiples pas-à-pas ont été utilisées pour déterminer les combinaisons de variables chimiques (ressource) et microbienne (biomasse) expliquant significativement les activités microbiennes.

6.3. Résultats

6.3.1. Effets des composts sur les propriétés physico-chimiques et microbiologiques des sols récemment incendiés

Cinq mois après les apports des composts sur le terrain, seules 3 variables physico-chimiques sur 10 (i.e. P total, P-PO_4^{3-} et N-NO_3^-) ont significativement augmenté par rapport aux sols incendiés non amendés (Tableau 6.2). Les teneurs en phosphore total et P-PO_4^{3-} ont été multipliées par 2 dépassant alors les teneurs dans les sols NB-1950. Concernant les teneurs en nitrate, nous avons mesuré des valeurs identiques entre les sols amendés et les sols NB-1950. En revanche, 10 mois après ces apports, 8 variables physico-chimiques sur 10 sont significativement modifiées. Nous avons mesuré une augmentation du pH, de la teneur en eau, en COT, en NT, en P total et en P-PO_4^{3-} dans les sols amendés atteignant toutes des valeurs supérieures à celle des sols NB-1950. Les taux d'enrichissement en P total et en NT plus importants qu'en carbone ont induit une diminution des ratios C/N et C/P dans les sols FB-2007CP (Tableau 6.2).

L'ACP réalisée sur les spectres du moyen infra-rouge 5 mois après l'épandage des composts ne montrent pas de différence de qualité de matière organique entre les sols FB-2007, FB-2007CP et NB-1950 (Figure 6.3a). En revanche, après 10 mois (Figure 6.3b), l'axe 1 de l'ACP qui exprime 63% de variance sépare les sols FB-2007 des sols FB-2007CP sans que ceux-ci n'atteignent pour autant les sols NB-1950.

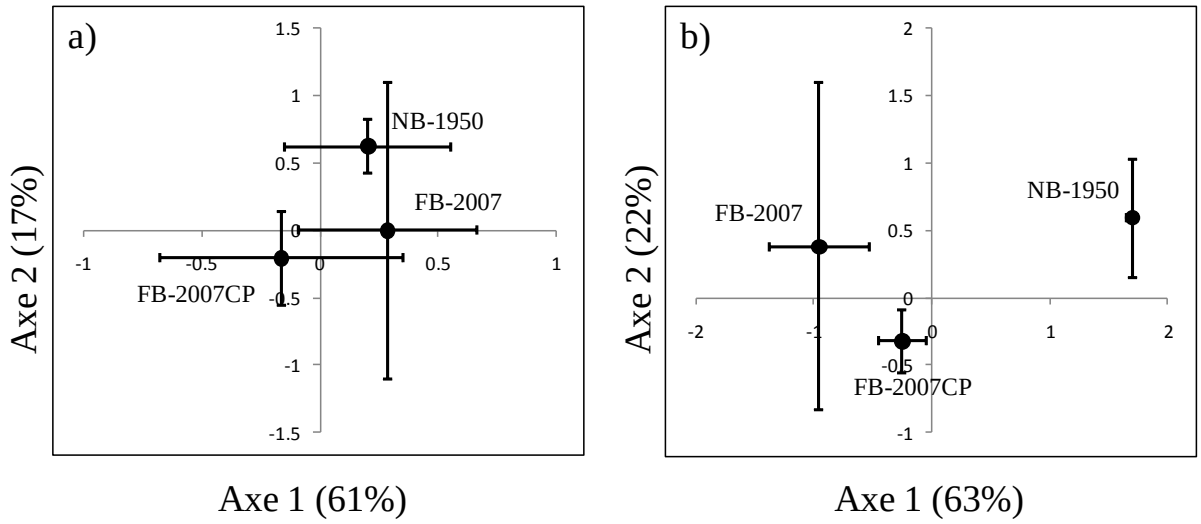


Figure 6.3 : Analyses en composantes principales des spectres MIR des sols FB-2007, FB-2007CP et NB-1950 à T_{5mois} (a) et T_{10mois} (b).

En ce qui concerne les propriétés microbiologiques, les analyses de variance obtenues à T_{5mois} sur les 3 activités enzymatiques β-glucosidase (β-glu), uréase (Ur) et phosphomonoestérase alcaline (Pmb) ont révélé des différences significatives entre les sols FB-2007 et NB-1950, et aucun effet significatif des apports de composts (Tableau 6.2). En revanche, 10 mois après l'apport de composts, les 3 activités ont significativement augmenté atteignant, à l'exception de la Pmb, des activités identiques à celles des sols NB-1950. La respiration basale et la biomasse ont augmenté sensiblement, mais non significativement dans les sols amendés 5 et 10 mois après les apports. Aucune différence significative de nitrification nette n'a été mesurée entre les sols, 5 mois après le début des expérimentions, mais cette activité a été significativement augmentée 10 mois après l'apport de composts. L'activité négative de minéralisation du phosphore dans les sols NB-1950 à T_{5mois} révèle une assimilation importante par les micro-organismes en phosphore inorganique. Des valeurs positives de minéralisation nette du P ont été mesurées, 5 mois après l'apport de compost. La respiration basale et la minéralisation nette du P ont significativement augmenté entre T_{5mois} et T_{10mois} ($P<0,05$, test de Student) tandis que l'activité uréase a diminué indiquant un effet « saison » sur ces variables.

Tableau 6.2 : Effet d'un apport de compost sur les propriétés physico-chimiques et microbiologiques des sols incendiés en 2007 et comparaison aux sols non brûlés au moins depuis 1950

	T_{5mois}					T_{10mois}				
Variables	F	P	NB-1950	FB-2007CP	FB-2007	F	p	NB-1950	FB-2007CP	FB-2007
Physico-chimiques										
COT (g/kg)	1,5	ns	11,1±1,1	8,9±1,2	6,8±0,5	5,2	<0,05	5,5±0,6^{ab}	8,2±0,8^{b}	4,5±0,5^{a}
NT (g/kg)	0,9	ns	0,64±0,06	0,64±0,08	0,46±0,05	9,1	<0,01	0,33±0,05^{a}	0,63±0,06^{b}	0,29±0,03^{a}
Ptot (g/kg)	5,6	<0,05	0,52±0,05^{a}	1,00±0,10^{b}	0,57±0,08^{a}	135,0	<0,001	0,47±0,06^{a}	1,17±0,03^{b}	0,49±0,03^{a}
C/N	7,3	<0,01	17,5±1,4^{b}	14,0±0,4^{a}	14,8±0,5^{a}	15,3	<0,001	16,9±0,5^{b}	13,1±0,4^{a}	15,5±0,8^{b}
C/P	17,4	<0,001	21,7±3,4^{b}	9,0±0,8^{a}	12,3±1,6^{a}	7,3	<0,001	11,9±1,0^{b}	7,0±0,5^{a}	9,5±1,8^{ab}
$N–NH_4^+$ (mg/kg)	0,2	ns	20,1±2,0	20,1±0,9	21,3±1,3	2,0	ns	18,6±3,5	17,5±1,0	13,5±0,7
$N–NO_3^-$(mg/kg)	3,5	<0,05	26,2±0,7^{b}	25,1±1,5^{ab}	18,3±1,1^{a}	0,2	ns	28,3±4,3	30,2±4,0	26,0±6,8
$P–PO_4^{3-}$(g/kg)	7,1	<0,01	0,25±0,06^{a}	0,77±0,09^{b}	0,39±0,09^{a}	52,3	<0,001	0,14±0,03^{a}	1,23±0,07^{b}	0,36±0,08^{a}
pH (eau)	0,9	ns	6,4±0,1	6,3±0,1	6,4±0,1	27,5	<0,001	6,7±0,1^{a}	7,4±0,1^{c}	7,1±0,1^{b}
Humidité (%)	2,6	ns	31,4±1,2	28,0±1,1	28,5±1,6	11,5	<0,001	21,1±1,4^{a}	28,4±0,7^{b}	24,2±2,1^{a}
Microbiologiques										
B-glucosidase*	19,0	<0,001	3,7±0,4^{b}	1,7±0,2^{a}	1,4±0,2^{a}	5,4	<0,05	5,3±0,9^{b}	4,5±0,5^{b}	2,7±0,3^{a}
Uréase*	12,1	<0,001	1,4±0,2^{b}	0,8±0,1^{a}	0,5±0,1^{a}	5,2	<0,05	0,16±0,03^{b}	0,19±0,03^{b}	0,07±0,02^{a}
Phosphatase alcaline*	9,9	<0,01	4,5±0,7^{b}	2,5±0,3^{a}	1,6±0,1^{a}	13,1	<0,001	6,4±0,8^{c}	3,9±0,2^{b}	2,1±0,9^{a}
Respiration basale †	6,6	<0,05	1,8±0,3^{b}	0,9±0,1^{a}	0,9±0,2^{a}	8,4	<0,01	4,4±0,3^{b}	2,9±0,2^{a}	2,3±0,5^{a}
Ammonification nette‡	1,0	ns	-0,10±0,07	-0,17±0,02	-0,15±0,04	0,5	ns	0,04±0,17	0,00±0,3	-0,07±0,04
Nitrification nette ┼	0,2	ns	2,6±0,4	2,7±0,5	2,2±0,5	4,5	<0,05	2,0±0,4^{a}	3,4±0,3^{b}	2,2±0,1^{a}
Minéralisation nette du P♦	4,7	<0,05	-3,2±2,6^{a}	1,7±0,6^{b}	0,7±0,4^{ab}	0,6	ns	0,3±0,9	6,9±3,6	4,6±2,9
Biomasse microbienne ╪	7,2	<0,01	2,6±0,3^{b}	1,7±0,2^{a}	1,2±0,2^{a}	9,2	<0,01	2,8±0,3^{b}	2,0±0,1^{a}	1,5±0,3^{a}
qCO_2	3,3	ns	0,60±0,09	0,37±0,04	0,39±0,10	0,67	ns	0,64±0,05	0,59±0,02	0,59±0,03

* : 10^{-2} U.g^{-1} MS ; † : µg C-CO2. g^{-1} MS. h^{-1}; ‡ : µg N-NH_4^+. g^{-1} MS. j^{-1} ; ┼ : µg N-NO_3^-. g^{-1} MS.j^{-1}; ♦ : µg P-PO_4^{3-}.g^{-1} MS. j^{-1} ; ╪ :µg C_{mic}. g^{-1} MS

Les régressions multiples pas à pas ont été utilisées pour déterminer les caractéristiques physico-chimiques (i.e. pH, humidité, COT, NT, Ptot, N-NH_4^+, N-NO_3^-, P-PO_4^{3-}) et microbiennes (i.e. biomasse microbienne) des sols FB-2007, FB-2007CP et NB-1950 qui expliquent le mieux le comportement des activités enzymatiques et des activités minéralisatrices à T_{5mois} et T_{10mois}. Les résultats sont présentés dans le Tableau 6.3. Cinq et dix mois après apports des composts, les activités enzymatiques sont corrélées positivement soit à la biomasse microbienne soit aux teneurs en COT. Les teneurs en éléments inorganiques ne contrôlent seuls, que les activités de nitrification nette et de minéralisation nette du P. La respiration basale à T_{5mois} est significativement contrôlée par le COT et le phosphore inorganique alors qu'à T_{10mois}, elle est contrôlée par la biomasse microbienne et les teneurs en ions ammonium (R^2=0,95, p<0,001).

Tableau 6.3 : Relations entre les propriétés physico-chimiques, la biomasse microbienne et les activités microbiennes évaluées par des régressions multiples pas à pas

	T_{5mois}		T_{10mois}	
Variables	Modèle	R^2	Modèle	R^2
B-glucosidase	BM(+)	0,39*	BM(+)	0,51**
Uréase	BM(+)	0,42*	COT(+)	0,52**
Phosphatase alcaline	COT(+)	0,50**	BM(+)	0,93***
Respiration basale	COT(+) ; P–PO_4^{3-}(-)	0,67***	BM(+) ; N–NH_4^+(+)	0,95***
Ammonification	Ns		Ns	
Nitrification	N–NH_4^+(+)	0,74***	P–PO_4^{3-}(+)	0,53**
Minéralisation du P	Ptot(+) ; N–NO_3^-(-)	0, 68***	Ns	

6.3.2. Effets de la qualité des composts sur les propriétés physico-chimiques des sols incendiés

Les effets de l'âge des composts en fonction du régime d'incendies, 5 et 10 mois après leur apport sur le terrain, ont été testés par une ANOVA à trois facteurs. Les résultats des effets principaux et des interactions "régime d'incendie × qualité des composts" et "temps × qualité des composts" sont présentés dans le Tableau 6.4 et détaillés ci-dessous.

L'apport de composts a significativement modifié 6 des 11 propriétés physico-chimiques des sols dépendamment du temps, mais pas des régimes d'incendies (Tableau 6.4). En effet, la réduction significative du carbone organique total (COT) et de l'azote total (NT) entre T_{5mois} et T_{10mois} (p<0,05, test de Student) révèle un effet saison, alors que ces propriétés

restent stables après les apports de composts (Figure 6.4a et 6.4b). Comparativement aux sols non amendés (T), les teneurs en COT ont augmenté significativement ($F=4,48$, $p<0,01$) 10 mois après l'apport des composts C2 et C3 (Figure 6.5a). Les teneurs en NT ont significativement augmenté après l'apport des 3 composts, d'autant plus fortement que le compost est âgé (Figure 6.4b). L'apport des 3 composts s'est traduit par l'augmentation du phosphore total (Ptot) à T_{5mois} ($F=27,9$, $p<0,001$). Cette augmentation est toutefois plus progressive pour le compost C3 comme le montre la différence significative entre T_{5mois} et T_{10mois} (Figures 6.4c). L'apport de compost a également induit une augmentation significative des teneurs en phosphore minéral ($P\text{-}PO_4^{3-}$) à T_{5mois} ($F=5,5$, $p<0,01$) qui ont été multipliées par 2,5 pour le compost C3 et par 3 pour les composts C1 et C2 (Figure 6.4d). Par ailleurs, ces teneurs ont continué d'augmenter à T_{10mois} atteignant les mêmes niveaux entre les 3 composts avec des teneurs proches de 1 $g.kg^{-1}$ de sol sec. En outre, les faibles différences de valeurs mesurées entre le Ptot et $P\text{-}PO_4^{3-}$ indiquent un enrichissement principalement en P inorganique (Figures 6.4c et 6.4d). Les teneurs en nitrate des sols amendés ont augmenté seulement à T_{5mois} alors qu'elles ont significativement augmenté 10 mois après l'apport de C1 et C3 (Figure 6.4e). Le pH des sols diminue significativement à T_{5mois} pour les composts C1 et C2, alors qu'il augmente pour les 3 composts à T_{10mois} et ceci d'autant plus fortement que le compost est âgé (Figure 6.4f).

L'analyse de variance par permutation a montré des effets significatifs du régime d'incendie et de l'apport de compost sur les spectres du moyen infra-rouge mais pas d'interaction significative entre ces deux facteurs (PERMANOVA ; $P>0,05$). L'axe 1 (67% de variance) du diagramme factoriel de l'ACP (Figure 6.5) calculée pour l'ensemble des régimes d'incendies discimine significativement (PERMANOVA ; $P<0,001$) le sol témoin des sols amendés par les composts. Aucune différence significative de profils spectroscopique n'a été mesuré entre les sols amendés (PERMANOVA ; $P>0,05$).

Tableau 6.4: ANOVA à 3 facteurs testant l'effet du régime de d'incendie (I), la qualité du compost (C) et le temps depuis l'apport de compost (T) et des interactions sur 2 niveaux sur les variables physico-chimiques et microbiologiques des sols.

Variables	Régime d'incendie (I)	Compost (C)	Temps (T)	I*C	C*T
ddl	2	3	1	6	3
Physico-chimiques					
COT	20,98***	2,76*	6,65*	0,86 ns	4,48**
NT	16,68***	5,91***	4,62*	1,01 ns	4,34**
Ptot	9,81***	25,70***	0,32 ns	0,92 ns	27,91***
C/N	9,60***	11,84***	0,03 ns	0,99 ns	0,57 ns
C/P	14,56***	8,25***	12,61***	0,49 ns	1,65 ns
$N–NH_4^+$	3,84*	2,35 ns	1,17 ns	0,59 ns	1,37 ns
$N–NO_3^-$	3,66*	4,79**	31,64***	0,64 ns	7,75***
$P–PO_4^{3-}$	7,31**	39,61***	27,08***	0,83 ns	5,47**
pH	11,22***	6,31***	312,40***	0,57 ns	18,48***
Humidité	22,60***	2,82*	34,95***	0,46 ns	1,65 ns
Microbiologiques					
B-glucosidase	20,16***	1,07 ns	92,11***	2,31*	2,30 ns
Uréase	31,06***	4,05*	799,22***	1,85 ns	1,06 ns
Phosphatase alcaline	23,08***	3,62*	29,01***	2,73*	3,15*
Respiration basale	26,81***	1,75 ns	122,78***	0,95 ns	2,14 ns
Ammonification nette	2,04 ns	0,21 ns	11,46***	0,14 ns	2,57 ns
Nitrification nette	7,77***	8,37***	46,60***	2,31*	3,31*
Minéralisation nette du P	0,58 ns	0,51 ns	18,82***	0,58 ns	0,76 ns
Biomasse microbienne	10,38***	1,37 ns	1,75 ns	0,53 ns	1,27 ns
qCO_2	1.19 ns	0.34 ns	26.65***	0.37 ns	0.38 ns

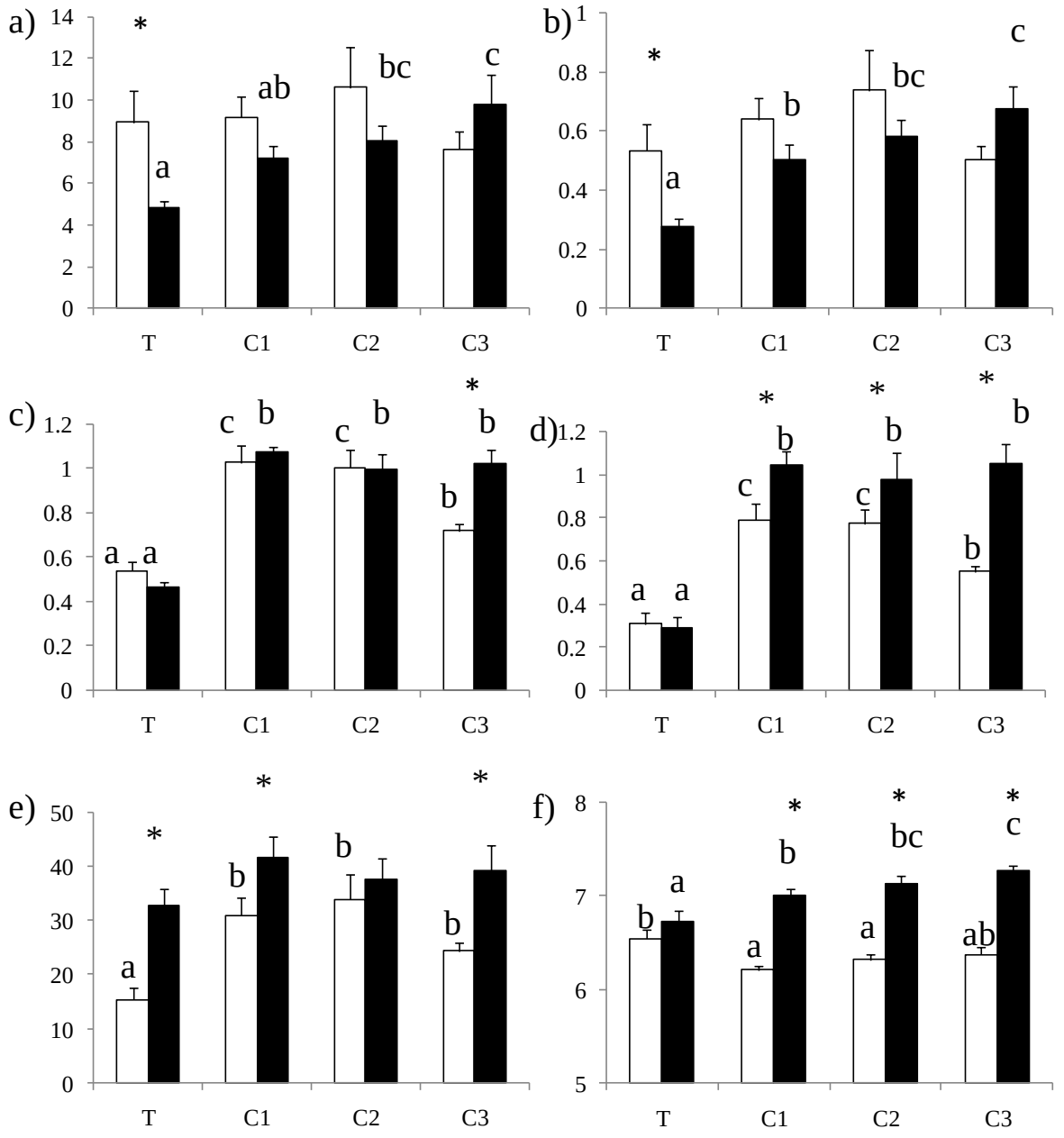


Figure 6.4 : Effet de la qualité des composts utilisés en fonction du temps sur le carbone organique total (a), l'azote total (b), le phosphore total (c), le P minéral (d), les nitrates (e) et le pH (f). Les barres blanches correspondent aux sols de la première campagne de prélèvement (Janvier 2009) et les barres noires à la deuxième (Juin 2009). L'astérisque (*) indique une différence significative entre les moyennes pour une même maturité de compost ($p<0,05$, test de Student) et les moyennes par campagne de prélèvement avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes (LSD de Fisher). Les barres verticales représentent les erreurs types.

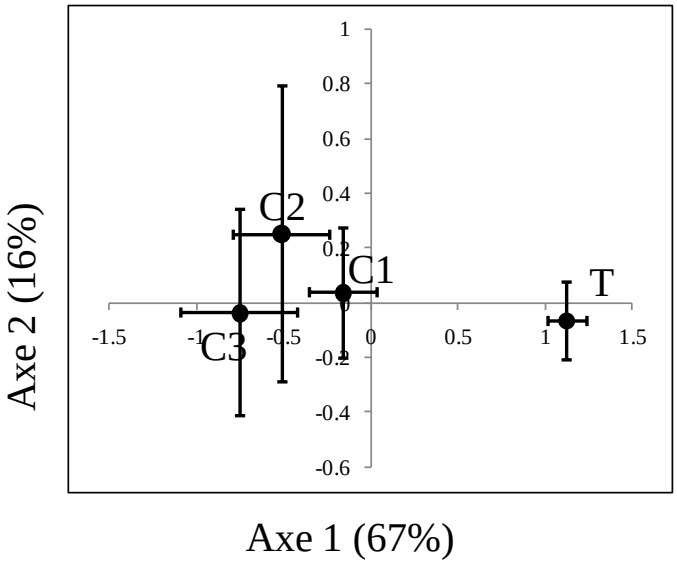


Figure 6.5: Diagramme factoriel obtenu par une analyse en composante principale sur les spectres MIR à T_{10mois} des sols incendiés sans apports (T) et amendés par un compost immature (C1), moyennement mature (C2) ou un très mature (C3).

6.3.3. Effets de la qualité des composts sur les propriétés microbiologiques des sols incendiés

L'apport de composts a significativement modifié 2 activités microbiennes sur les 9 dépendamment du régime d'incendie (C*I) et du temps (C*T) (Tableau 6.4). Pour rechercher les effets, nous avons séparé les données par période (T_{5mois} et T_{10mois}), par qualité de composts et par régime d'incendies pour ces 2 activités microbiennes (Figure 6.6 et 6.7). A T_{5mois}, l'activité des phosphomonoestérases alcalines (Pmb) a augmenté significativement à la suite d'apport des composts C1 pour les sols FB-2003 et FB-2007, mais également après apport de composts C2 pour les sols FB-2003 (Figure 6.6a). L'apport de compost à T_{10mois} n'a pas eu d'effet significatif (Figure 6.6b) principalement parce que l'activité Pmb a été amplifiée de 40% dans toutes les modalités par un effet de saison (Tableau 6.5).

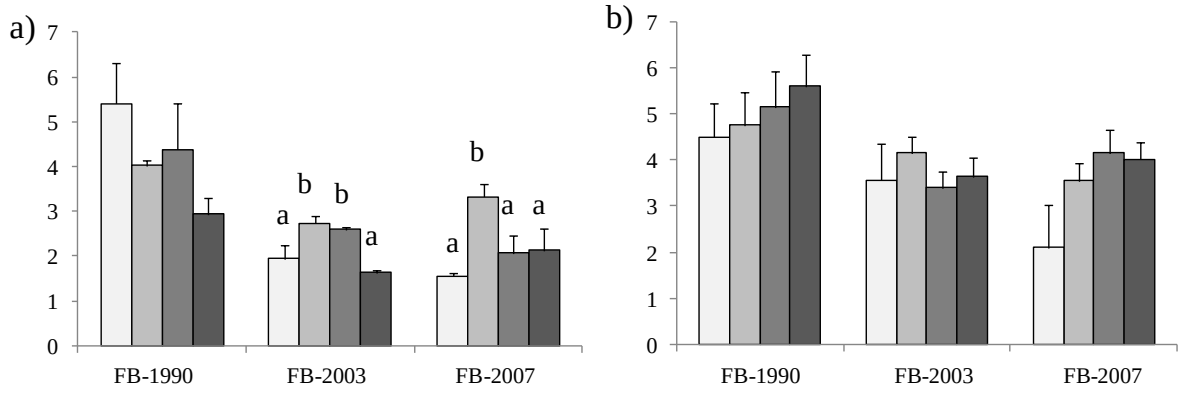


Figure 6.6 : Effets des différents composts sur la phosphomonoestérase alcaline en fonction du régime d'incendie 5 et 10 mois après leurs apports (respectivement a et b).

La nitrification nette augmente significativement sous l'effet d'apport de composts C1 et C2 à T_{5mois} pour les sols incendiés FB-1990 et FB-2003 (Figure 6.7a). A T_{10mois}, la nitrification nette des sols FB-2003 a augmenté quel que soit l'âge des composts, se traduisant par des valeurs positives (Figure 6.7b). Les sols FB-2007 ont montré une nitrification nette qui a augmenté de 25% et 65% après l'apport respectivement de C3 et de C2.

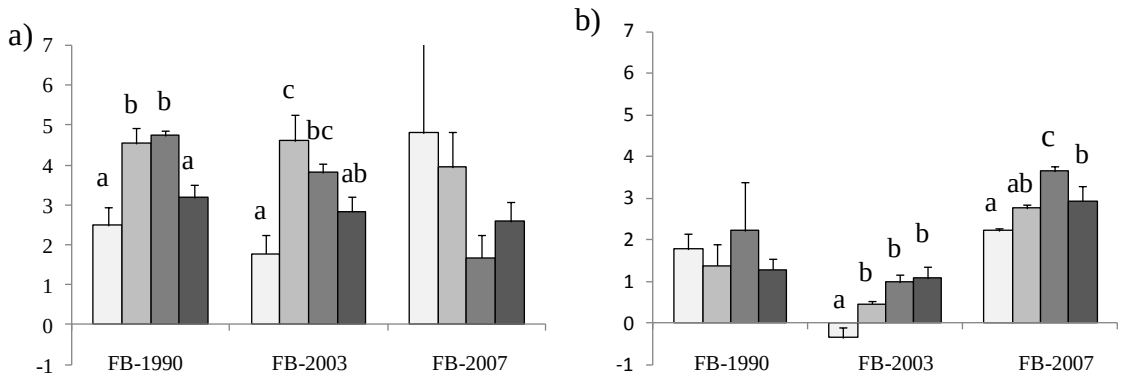


Figure 6.7 : Efficacité des différents composts sur la nitrification nette en fonction du régime d'incendie 5 et 10 mois après leurs apports (respectivement a et b).

Tableau 6.5: Effets de la qualité du compost (C) et du temps depuis l'apport de compost (T) sur les variables physico-chimiques et microbiologiques des sols

Variables	Régime d'incendie			Qualité des composts				Temps	
	FB-1990	FB-2003	FB-2007	Témoins	C1 (21j)	C2 (3mois)	C3 (9mois)	5 mois	10 mois
Physico-chimiques									
COT (g/kg)	11,0±0,9^{c}	6,0±0,3^{a}	7,9±0,6^{b}	6,9±0,9^{a}	8,2±0,6^{b}	9,3±1,1^{b}	8,7±0,8^{b}	9,1±0,7^{b}	7,5±0,5^{a}
NT (g/kg)	0,71±0,06^{c}	0,39±0,03^{a}	0,57±0,04^{b}	0,41±0,06^{a}	0,57±0,05^{b}	0,66±0,08^{b}	0,59±0,05^{b}	0,60±0,05^{b}	0,51±0,04^{a}
Ptot (g/kg)	0,86±0,05^{b}	0,77±0,05^{a}	0,95±0,07^{b}	0,50±0,02^{a}	1,05±0,04^{c}	1,00±0,05^{c}	0,87±0,05^{b}	0,82±0,05	0,89±0,05
C/N	16,3±0,5^{b}	15,9±0,5^{b}	13,8±0,3^{a}	17,3±0,6^{b}	14,7±0,4^{a}	14,4±0,3^{a}	14,9±0,5^{a}	15,3±0,4	15,5±0,4
C/P	13,0±1,4^{b}	10,7±1,2^{a}	9,0±0,6^{a}	13,0±1,6^{b}	9,3±1,2^{a}	9,8±1,0^{a}	11,1±1,4^{a}	11,7±1,1^{b}	9,9±0,8^{a}
N–NH_4^+ (mg/kg)	26,3±3,2^{b}	23,9±2,2^{b}	18,3±0,7^{a}	21,7±2,3	28,9±4,1	20,1±1,0	20,2±1,7	23,2±1,7	22,4±2,1
N–NO_3^-(mg/kg)	36,2±2,6^{b}	33,4±2,9^{b}	26,3±2,1^{a}	24,0±2,8^{a}	36,3±2,8^{b}	35,8±2,9^{b}	31,7±3,0^{b}	26,1±1,9^{a}	37,7±2,0^{b}
P–PO_4^{3-}(g/kg)	0,69±0,07^{a}	0,64±0,06^{a}	0,84±0,08^{b}	0,30±0,03^{a}	0,92±0,06^{b}	0,88±0,07^{b}	0,80±0,08^{b}	0,61±0,04^{a}	0,84±0,07^{b}
pH (eau)	6,59±0,08^{a}	6,69±0,07^{b}	6,81±0,11^{c}	6,65±0,07^{ab}	6,60±0,10^{a}	6,72±0,11^{bc}	6,82±0,12^{c}	6,36±0,04^{a}	7,03±0,05^{b}
Humidité (%)	25,8±1,3^{b}	20,1±1,1^{a}	27,4±0,6^{a}	22,4±1,3^{a}	24,0±1,5^{ab}	25,7±1,5^{b}	25,6±1,2^{b}	21,8±0,7^{a}	27,2±1,1^{b}
Microbiologiques									
B-glucosidase*	4,2±0,3^{b}	2,7±0,2^{a}	2,9±0,3^{a}	3,1±0,4	3,4±0,4	3,4±0,4	3,1±0,3	2,3±0,2^{a}	4,1±0,2^{b}
Uréase*	0,78±0,13^{b}	0,74±0,12^{b}	0,44±0,07^{a}	0,56±0,12^{a}	0,70±0,14^{b}	0,70±0,14^{b}	0,65±0,11^{b}	1,12±0,06^{b}	0,19±0,01^{a}
Phosphatase alcaline*	4,6±0,3^{b}	3,0±0,2^{a}	2,9±0,2^{a}	3,2±0,4^{a}	3,8±0,2^{b}	3,6±0,3^{b}	3,3±0,4^{ab}	2,9±0,2^{a}	4,1±0,2^{b}
Respiration basale†	3,5±0,4^{c}	2,5±0,3^{b}	1,9±0,2^{a}	3,4±0,2	4,2±0,5	4,6±0,6	4,3±0,4	4,9±0,4^{b}	3,4±0,2^{a}
Ammonification nette‡	-0,14±0,11	0,06±0,08	-0,09±0,02	-0,08±0,05	-0,05±0,16	-0,09±0,04	-0,01±0,05	-0,22±0,05^{a}	0,10±0,07^{b}
Nitrification nette ┼	2,7±0,3^{b}	2,0±0,3^{a}	2,9±0,2^{b}	1,8±0,2^{a}	3,1±0,5^{c}	2,9±0,4^{bc}	2,3±0,2^{ab}	3,2±0,2^{b}	1,8±0,2^{a}
Minéralisation nette du P♦	4,8±1,7	4,1±1,4	3,8±1,5	3,2±1,3	5,1±1,9	5,6±1,6	3,0±2,2	1,2±0,4^{a}	7,3±1,5^{b}
Biomasse microbienne ╪	2,4±0,19^{b}	1,7±0,1^{a}	1,7±0,1^{a}	1,7±0,1	1,9±0,2	2,1±0,2	2,0±0,2	2,1±0,2	1,9±0,1
qCO_2	0,52±0,02	0,53±0,03	0,48±0,03	0,53±0,04	0,50±0,03	0,51±0,03	0,50±0,03	0,44±0,02^{a}	0,58±0,02^{b}

* : 10^{-2} U.g^{-1} MS ; † : µg C-CO2. g^{-1} MS. h^{-1}; ‡ : µg N-NH_4^+. g^{-1} MS. j^{-1} ; ┼ : µg N-NO_3^-. g^{-1} MS.j^{-1}; ♦ : µg P-PO_4^{3-}.g^{-1} MS. j^{-1} ; ╪ :µg C_{mic}. g^{-1} MS

L'analyse de variance par permutation a montré des effets significatifs du régime d'incendie et de l'apport de compost sur les profils catabolique microbiens mais pas d'interaction significative entre ces deux facteurs (PERMANOVA ; P>0,05). Par conséquent, une ACP unique a été réalisé pour illustrer l'effet de la maturité des composts pour l'ensemble des régimes d'incendies. L'axe 2 (11% de variance) du diagramme factoriel de cette ACP (Figure 6.8) révèle une discimination significative (PERMANOVA ; P<0,05) entre les sols témoins et les sols amendés par les composts C2 et C3.

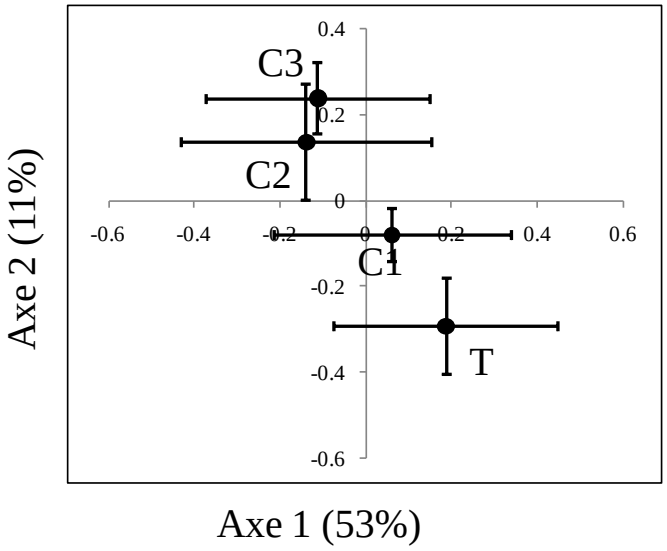


Figure 6.8 : Analyse en composante principale des profils cataboliques des sols incendiés en 1990, 2003 et 2007 avec apport de compost immature (C1), moyennement mature (C2) et un très mature (C3) et sans apport (T) à T_{10mois}.

Ici encore, les régressions multiples pas à pas ont été utilisées pour déterminer les caractéristiques physico-chimiques (i.e. pH, humidité, COT, NT, Ptot, N-NH_4^+, N-NO_3^-, P-PO_4^{3-}) et microbiennes (i.e. biomasse microbienne) qui expliquent le mieux le comportement des activités enzymatiques et des activités minéralisatrices à T_{5mois} et T_{10mois}. L'apport de ressources organiques et inorganiques sous la forme de composts contrôle les activités microbiennes de sols des trois régimes d'incendies (Tableau 6.6). Les activités enzymatiques sont positivement corrélées aux teneurs en COT et/ou à la biomasse microbienne (BM) à T_{5mois}, alors qu'à T_{10mois} c'est l'azote total (NT) qui contrôle positivement les activités β-glucosidases et uréases. A moyen terme, l'activité des Pmb est négativement corrélée

principalement aux teneurs en COT (R^2=0,93, P<0,001). La respiration basale est étroitement reliée aux teneurs en COT et NT à T_{5mois} avec un modèle qui se complexifie à T_{10mois} en intégrant la biomasse microbienne, le pH et le phosphore inorganique, (R^2=0,85, P<0,001) (Tableau 6.6).

Tableau 6.6 : Relations entre les propriétés physico-chimiques, la biomasse microbienne et les activités microbiennes évaluées par des régressions multiples pas à pas

	T_{5mois}		T_{10mois}	
Variables	Modèle	R^2	Modèle	R^2
B-glucosidase	COT(+); $P–PO_4^{3-}$(-); BM(+)	0,69***	NT(+)	0,38***
Uréase	BM(+)	0,23*	NT(+)	0,25**
Phosphatase alcaline	COT(+)	0,72***	COT(-); pH(-); NT(+)	0,93***
Respiration basale	COT(+); NT(-)	0,73***	BM(+); pH(-); COT(+); NT(-); $P–PO_4^{3-}$(-)	0,85***
Ammonification	Ns		pH(-)	0,23**
Nitrification	$P–PO_4^{3-}$(-); BM(+)	0,48***	pH(+)	0,37**
Minéralisation du P	NT(+)	0, 29***	Ns	

6.3.4. Résistance et résilience de la respiration basale soumise à un stress hydrique

La résistance et la résilience de la respiration basale ont été évaluées pour la deuxième campagne de prélèvement (T_{10mois}) et exprimées en pourcentage du contrôle (sol non stressé). L'ANOVA à 2 facteurs montre un effet significatif du régime d'incendie et de la qualité des composts mais pas de leur interaction sur la résistance et la résilience (Tableau 6 .7). Le cycle de dessiccation/ré-humectation a engendré une augmentation de la respiration basale d'autant plus élevée que les feux sont anciens (Tableau 6.7). Ainsi la respiration basale des sols FB-1990 augmentent de 132% par rapport au contrôle, les sols FB-2003 de 97% et les sols FB-2007 de 68%. Une faible résilience de l'activité respiratoire a été mesurée pour les trois régimes d'incendie. Le niveau de respiration des sols FB-2007 a atteint, à la résilience, 42% du contrôle. L'apport des composts a induit une augmentation significative après le stress du pourcentage de respiration par rapport au contrôle. Cette réponse a cependant été identique quel que soit l'âge du compost. La résilience de la respiration basale a significativement diminué par l'apport des composts, indépendamment de leur l'âge.

Tableau 6.7 : Effet de la qualité d'un compost et du régime d'incendie sur la résistance et la résilience de la respiration basale des communautés microbiennes soumises à un stress hydrique

Stabilité	Résistance (%)		Résilience (%)	
Facteur	F	P	F	P
Régime d'Incendie	6,3	<0,01	11,4	<0,001
FB-1990	232±16[b]		51±2,0[b]	
FB-2003	197±14[ab]		52±2,4[b]	
FB-2007	168±6[a]		42±1,8[a]	
Qualité des Composts	3,93	<0,05	6,03	<0,01
T	167±14[a]		56±2,5[b]	
C1	211±10[b]		47±1,4[a]	
C2	204±15[b]		46±2,7[a]	
C3	213±25[b]		46±3,0[a]	

6.4. Discussion

6.4.1. Effets de l'apport de composts sur les propriétés physico-chimiques et microbiologiques d'un sol récemment incendié

La répétition des incendies engendre classiquement une diminution des teneurs en éléments minéraux et carbone organique dans les sols (Campo *et al.*, 2006) (Chapitre 3 et 4). Nos résultats, en accord avec les travaux de Kowalkow et Mazzarino (2007) effectués sous un climat semi-aride, ont montré que l'apport de compost augmente rapidement (dès 5 mois) les teneurs en phosphore inorganique et en nitrate, éléments la plupart du temps limitant dans les sols Méditerranéens (Carreira *et al.*, 1997). Malgré cette fertilisation qui s'est poursuivie 10 mois après l'amendement, les teneurs sont restées largement inférieures à celles mesurées par Kowaljow et Mazzarino (2007) pour des sols récemment incendiés de Patagonie, amendés par des composts de boues municipales. Parallèlement, nous avons également enregistré un enrichissement des sols en carbone organique et en azote total. Cependant, l'enrichissement plus important en azote et en phosphore totaux relatif à celui du carbone a diminué les valeurs des ratios C/N et C/P. Ces résultats sont en opposition avec ceux de Guerrero *et al.* (2001) qui ont montré une augmentation du carbone et de l'azote total mais pas en phosphore, probablement à cause de la qualité de leur composts 10 fois moins concentrés en P par rapport à la littérature (Giusquiani *et al.*, 1995) ainsi qu'aux nôtres (Tableau 6.1). Ce résultat confirme donc que l'efficacité d'un compost sur les propriétés chimiques serait proportionnelle à sa

qualité et en particulier à ses teneurs en C, N et P. Dans notre étude, l'augmentation des teneurs en C organique concomitante à la diminution des ratios C/N et C/P suggère que l'apport de composts peut stimuler la biomasse microbienne (Leytem *et al.*, 2005) et augmenter la minéralisation de la matière organique des sols (Qiu *et al.*, 2008). Les résultats de la spectroscopie du moyen infra-rouge ont par ailleurs confirmé ces modifications de quantité et de qualité de la matière organique des sols amendés.

L'apport de compost a maintenu une plus forte humidité dans les sols à la saison estivale (T_{10mois}) probablement grâce à la forte capacité de rétention en eau des composts et à une limitation de l'évaporation par le dépôt de surface (Serra-Wittling *et al.*, 1995). L'eau est l'un des facteurs limitant de l'activité microbienne des sols Méditerranéens (Sardans et Peñuelas, 2005). Cependant, les activités enzymatiques liées aux cycles du C, N et P sont principalement expliquées par la biomasse microbienne et/ou le carbone organique total (Tableau 6.3), indiquant en outre un effet peu significatif de l'augmentation des teneurs en eau sur les activités microbiennes. Par ailleurs le pH des sols incendiés à légérement, mais significativement, augmenté après l'apport de composts. Cette alcalinisation pourait être attribuée aux teneurs élevées en calcium des composts ; le chaulage des boues de stations d'épuration avant leur compostage étant effectivement un procédé fréquement adopté pour hygièniser les boues et augmenter leur pH.

L'apport de composts a augmenté les activités enzymatiques des sols. La littérature rapporte des effets variés de l'apport de compost sur les activités enzymatiques des sols. Par exemple Lima *et al.* (1996) ont mesuré des effets négatifs tandis que Sastre *et al.* (1996) et Kizilkaya and Bayrakli (2005) rapportent une augmentation des activités enzymatiques des sols amendés qui corroborent nos résultats. L'augmentation des activités enzymatiques du sol amendé peut provenir d'une part d'une contribution directe des enzymes provenant des composts et d'autre part d'une stimulation de la production d'enzymes par les micro-organismes du sol, en particulier lorsque le sol est enrichi en matière organique. Dans notre étude, l'augmentation des activités enzymatiques s'accompagne d'une augmentation visible mais non significative de la respiration basale et de la biomasse microbienne. En ce sens, nos résultats sont plus modérés que ceux de la littérature (Pascual *et al.*, 1997 ; Borken *et al.*, 2002 ; Sánchez-Monedero *et al.*, 2004 ; Aparecida *et al.*, 2005 ; Liu *et al.*, 2009) qui montrent que l'apport de ressources organiques labiles augmente, à court terme, et simultanément, les activités enzymatiques, l'activité respiratoire microbienne et la biomasse microbienne. Nous suggérons ainsi que les composts utilisés dans notre étude apportent aux sols soit directement des enzymes, soit les substrats nécessaires à l'induction de la synthèse enzymatique par les

micro-organismes (García *et al.*, 1993). Cependant, la faible production de biomasse suggère alors que les apports en carbone restent insuffisants pour permettre, après 10 mois, à la fois une augmentation de biomasse microbienne et une production enzymatique élevée, elle-même très coûteuse en énergie. Malgré l'augmentation de l'activité des uréases, enzymes qui catalysent la minéralisation de l'azote organique, l'activité d'ammonification nette mesurée par la dynamique des flux de $N\text{-}NH_4^+$ en conditions contrôlée n'a pas été modifiée par les apports. Des différences similaires entre deux activités impliquées dans la dynamique du cycle de l'azote ont été observées par Zaman et Chang (2004) qui ont mesuré après des apports de composts, une minéralisation nette de l'azote négative et une minéralisation brute positive. L'augmentation concomittante de la nitrification nette suggère une stimulation plus forte de cette activité consommatrice de $N\text{-}NH_4^+$ que de l'activité productrice de ces ions ammonium. Zaman *et al.* (2004) ont montré une augmentation similaire de la nitrification nette des sols après des apports de composts. Outre les teneurs élevées en $N\text{-}NH_4^+$ fortement correllées à la nitrification nette (Tableau 6.3.), le pH et l'humidité des sols sont également les principaux facteurs qui peuvent contrôler l'activité nitrifiante (Krave *et al.*, 2002). L'augmentation des teneurs en eau et du pH des sols amendés pourraient avoir ainsi favorisé l'activité des populations nitrifiantes sensibles aux pH acides (Ste-Marie et Paré, 1999).

6.4.2. Effets de la maturité des composts sur les propriétés physico-chimiques et microbiologiques des sols

Concernant les sols méditerranéens incendiés, les travaux ont essentiellement porté sur l'évaluation des effets de doses variables sur les propriétés physico-chimiques, ou sur la comparaison des effets induits par des composts de différentes origines et donc de différentes qualités (Guerrero *et al.*, 2001 ; Larchevêque *et al.*, 2005 ; Kowaljow et Mazzarino, 2007). Cependant l'effet d'un seul type de compost de maturité croissante sur la qualité des sols incendiés, et en particulier leur fonctionnement microbien, est méconnu (Guerrero *et al.*, 2000). Nos résultats ont indiqué un effet variable des composts C1, C2 et C3 et indépendant du régime d'incendie sur les teneurs en phosphore total et inorganique après 5 mois uniquement et les teneurs en carbone organique et en azote total après 10 mois. L'absence de différence significative des teneurs en phosphore organique entre les composts (Tableau 6.1) indique que les variations de phosphore total correspondent, en fait, aux variations du P inorganique qui représente à lui seul en moyenne 70% du phosphore total. Cinq mois après les

apports, la lixiviation du phosphore inorganique et l'enrichissement consécutif des sols ont été plus intenses pour les composts C1 et C2, malgré des concentrations identiques pour les 3 composts. La solubilité aqueuse du P contenu dans des composts dépend de sa forme pouvant être ionique libre ou complexée aux oxy-hydroxydes de fer et d'aluminium ou aux carbonates de calcium (Sharpley et Moyer, 2000). Nous suggèrons que les orthophosphates du compost C3 sont sous une forme moins soluble, probalement d'apatite, et donc moins lixiviable au cours du temps. Après 10 mois, les sols se sont enrichis en carbone organique et en azote total proportionnellement aux teneurs en COT et NT des composts. En outre, l'absence de différence de teneurs en P inorganique dans les sols 10 mois après les apports pourrait s'expliquer par le lessivage plus long du phosphore contenu dans le compost C3 sous une forme particulaire et associé aux transferts de COT.

Malgré ces modifications de propriétés chimiques des sols, dont l'intensité dépend de la maturité des composts, seuls les profils cataboliques microbiens ont été significativement modifiés par ces différents apports. Calderón *et al.* (2001) ont suggéré qu'une modification dans le processus de minéralisation du N et donc de disponibilité du N peut être liée à des changements de profils cataboliques. L'augmentation de la ressource, en particulier en azote souvent limitant dans les sols incendiés (Carreira *et al.*, 1997), a probablement modifié les capacités cataboliques des communautés microbiennes (Cookson *et al.*, 2008) (Chapitre 3). Contrairement à notre hypothèse, les composts immatures induisent les plus faibles modifications (Figure 6.8) en particulier pour les sols très récemment incendiés. Le compost immature possède une teneur en carbone inférieure aux deux autres, leur apport résultant ainsi, en un plus faible enrichissement en carbone des sols. Or, les travaux de Degens *et al.* (2000) ont montré le lien étroit entre la teneur en carbone des sols et les capacités cataboliques des communautés microbiennes. Nos résultats indiquent donc que les composts C2 moyennement matures et C3 matures, tous les deux plus concentrés en COT et Ntot, seraient plus efficaces et indiqués pour restaurer le potentiel catabolique des communautés microbiennes.

6.4.3. Effets interactifs de la maturité des composts et du régime d'incendie sur les propriétés physico-chimiques et microbiologiques des sols

L'expérimentation que nous avons mise en place sur le terrain visait également à tester l'hypothèse que les effets de composts de différentes maturités sur la qualité chimique et

microbiologique des sols pouvaient varier selon leur histoire d'incendie et donc leur état de dégradation. Aucun travail à notre connaissance n'a croisé les effets de composts de différentes maturités avec l'état de dégradation des sols (Sánchez-Monedero *et al.*, 2004). Notre hypothèse a été confirmée seulement pour deux activités microbiennes (i.e. phosphatase alcaline et nitrification nette). L'activité phosphatase alcaline est d'autant plus stimulée à court terme par des composts immatures apportés sur des sols fortement dégradés. Ros *et al.* (2006) ont montré une augmentation des activités phosphatases alcalines de sols agricoles, modulée par l'origine des composts et qui s'est avérée d'autant plus forte pour des composts présentant un rapport C/N bas. En revanche les travaux de Bastida *et al.* (2008) portant sur des écosystèmes similaires aux nôtres rapportent une augmentation plus importante de cette activité après l'apport de matières organiques compostées et stables. Nos résultats peuvent être expliqués soit par la différence de qualité des substrats enzymatiques, soit par la différence d'apports directs d'enzymes ou de micro-organismes par les différents composts. Les composts C1 immatures sont des déchets organiques peu stabilisés (Tableau 6.1.) susceptibles de fournir des composés organiques phosphorés et hydrolysables. L'augmentation des teneurs en phosphore total après les apports pourrait ainsi avoir stimulé la synthèse de ces enzymes. Par contre, l'absence d'effet à court terme du compost immature sur la biomasse microbienne et les profils cataboliques suggèrent un rôle plus important de caractéristiques chimiques de la matière organique des composts que des populations microbiennes qu'il contient. Ceci est confirmé par Saison *et al.* (2006) qui ont montré que les populations natives du compost, habituées à des conditions particulières (pH, ressource et température), survivent difficilement dans les sols et ne soutiennent pas l'augmentation des activités minéralisatrices qui serait alors attribuée essentiellement aux communautés autochtones. Les phosphatases alcalines, essentiellement d'origine microbienne (Nekas *et al.*, 1987), sont des hydrolases répressibles qui reflètent la demande spécifique en phosphore de la biomasse microbienne (Chen *et al.*, 2003). La stimulation de cette activité d'autant forte que les feux sont récents révèle ainsi la très forte demande microbienne en phosphore. Inversement l'absence d'induction de ces enzymes dans les sols anciennement incendiés pourrait indiquer une ressource non limitante pour ces activités, voire leur repression par l'apport de phosphore excédentaire.

Les effets à court terme (T_{5mois}) des amendements sur la nitrification nette se sont avérés d'autant plus élevés que les composts étaient immatures et qu'ils ont été appliqués sur des sols anciennement incendiés. Dix mois après les apports, cette tendance s'est totalement inversée et la nitrification nette a été d'autant plus stimulée dans les sols récemment incendiés

et amendés par des composts matures. Comme indiqué ci-dessus, le pH des sols est un facteur qui peut contrôler l'activité nitrifiante (Krave *et al.*, 2002). Cinq mois après les apports, nous avons mesuré une diminution du pH des sols qui pourrait être attribuée à un transfert rapide et plus important des acides organiques contenus dans les composts que des ions alcalins tels que le calcium. Les bactéries nitrifiantes sont sensibles aux pH acides (Ste-Marie et Paré, 1999). Par conséquent, les effets des composts à court terme sur la nitrification nette ne peuvent pas être expliqués par ces variations de pH, mais plus probablement par une stimulation globale de l'activité microbienne et en particulier de l'activité de nitrification hétérotrophe importante dans les sols méditerranéens (Schimel *et al.*, 1984). Ces effets plus importants après un apport en compost immatures dans les sols anciennement incendiés, soulignent à la fois la richesse de ces composts en composés organiques solubles et leur effet stimulant dans des sols où le carbone est plus évolué et donc moins disponible. En revanche, 10 mois après les apports, l'augmentation croissante du pH des sols avec la maturité du compost a été mesurée et traduit le lessivage durable dans le temps des ions calcium. La forte corrélation positive après 10 mois entre le pH et la nitrification nette suggèrent une amélioration par les composts des conditions pour les populations nitrifiantes et leur activité (Ste-Marie et Paré, 1999). Les composts C2 et C3 possédant les teneurs en calcium les plus élevées ont induit les plus forts taux de nitrification nette dans les sols les plus récemment incendiés et les plus alcalins. Ce résutat suggère ainsi un effet synergique de l'augmentation du pH des sols par les incendies (Chapitre 3) et les apports de compost.

6.4.4. Résistance et résilience de la respiration basale soumise à un stress hydrique

L'apport de composts a augmenté l'intensité de la respiration basale microbienne immédiatement après le stress hydrique et a diminué la résilience de cette activité. Ces résultats sont en désaccord avec certains travaux qui ont montré que la stabilité microbienne (i.e. résistance et résilience) était facilitée par certains facteurs abiotiques tels que la disponibilité en nutriments (Moore *et al.*, 1993), le pH (Wardle, 1998) ou la quantité de carbone et sa disponibilité (Cf. Chapitre 5). L'amplification de l'activité respiratoire après un stress de type dessiccation/humectation est une réponse courante qui a été mesurée par de nombreux auteurs (Bottner, 1985 ; Schimel *et al.*, 1999 ; Fierer et Schimel, 2002) et que nous avons également obtenue sur les sols incendiés (Chapitre 5). Ce processus est nommé 'priming effect' en anglais. Le 'priming effect' désigne une activité respiratoire intense qui est

due en grande partie à la minéralisation des micro-organismes morts par les survivants. Au-delà d'un certain seuil de stress, les micro-organismes les plus sensibles meurent et les plus résistants survivent en formant des endospores ou des kystes. La ré-hydratation rapide du sol provoque le déversement du contenu cellulaire (e.g. carbohydrates, acides aminés, amides et nucléotides) dans le sol. Cet apport en carbone labile est rapidement minéralisé par les bactéries survivantes au stress (Fierer et Schimel, 2002) et peut stimuler la minéralisation du carbone stable des sols (Wu et Brookes, 2005). Le 'priming effect' plus intense que nous avons mesuré dans les sols amendés pourrait provenir soit, d'une stimulation préalable de la biomasse microbienne par les apports et ainsi, à sensibilité équivalente, d'une plus grande quantité de cellules mortes et donc *in fine* de carbone minéralisable, soit d'un apport en carbone exogène minéralisable par les cellules survivantes, soit d'une augmentation de la vulnérabilité des communautés au stress et donc d'une plus forte mortalité conduisant à un 'priming effect' plus intense et à une perte de résilience. L'apport de compost n'a pas augmenté significativement la biomasse microbienne, rejetant ainsi la première hypothèse. En revanche, l'augmentation des teneurs en COT et la modification concomitante de la qualité chimique de la matière organique du sol (Figure 6.5) pourraient expliquer l'amplification de l'activité respiratoire post-stress. Les stress hydriques en détruisant une part de la biomasse microbienne accélérerait la minéralisation des matières organiques apportées par les composts. L'efficacité d'utilisation des ressources évaluée par le calcul du quotient métabolique, est un facteur potentiel pouvant contrôler la stabilité microbienne aux stress hydriques (Bottner, 1985). Des communautés possèdant une faible efficacité métabolique (qCO2 bas) seraient d'après Bottner (1985) plus résistantes aux stress mais moins résilientes. Malgré l'absence d'effets des composts sur le quotient métabolique, nous ne pouvons cependant pas rejeter la possibilité d'une vulnérabilité plus forte des communautés des sols amendés. En effet, la plus faible capacité de résilience des sols amendés traduit une diminution de biomasse post-stress probablement plus importante dans ces sols et donc une plus grande vulnérabilité de ces communautés.

6.5. Conclusions

L'apport de composts s'est avéré efficace pour restaurer, au niveau de l'écosystème de référence, les propriétés physico-chimiques des sols récemment incendiés redynamisant ainsi les fonctions microbiennes en moins d'un an. L'apport d'un compost mature plus riche en

matières organiques s'est avéré plus efficace pour restaurer les propriétés physico-chimiques alors que le compost immature semble mieux indiqué pour redynamiser l'activité microbienne. En revanche, cet effet dépend peu du régime d'incendie et donc de l'état de dégradation des sols. Une solution intermédiaire serait d'utiliser des composts moyennement matures (3 mois d'âge) qui donnent de bons résultats à court et moyen termes sur la qualité des sols. Ceci permettrait en termes de gestion de ces déchets, et donc de coût, de réduire le temps de compostage nécessaire actuellement pour obtenir un bio-déchet valorisable. La stabilité de l'activité respiratoire n'a pas été améliorée par l'apport de composts de différentes qualités. L'enrichissement en ressource s'est traduit par un plus fort 'priming effect' mais également une plus forte chute de l'activité respiratoire suggérant une érosion rapide de la ressource. La pérennisation de cette filière de valorisation des déchets organiques pour la restauration des sols incendiés nécessite cependant l'évaluation de l'efficacité des apports à long terme et la vérification de l'innocuité environnementale des produits.

Chapitre 7

SYNTHÈSE ET DISCUSSION GÉNÉRALE

Synthèse et discussion générale

Le feu est un phénomène planétaire qui serait survenu entre 420 et 350 millions d'années (Goudsblom, 1992 ; Scott et Glasspool, 2006), peu de temps après l'apparition des végétaux terrestres mais bien avant celle de l'Homme. Depuis 7 à 8 millénaires, ce dernier a généralisé l'usage du feu en Méditerranée pour une gestion agro-pastorale des espaces naturels. Le rythme raisonné de ces feux a créé une mosaïque de paysages composés d'espèces adaptées et donc en équilibre avec la perturbation. L'accélération contemporaine du rythme des incendies représente un risque dont les conséquences peuvent être multiples. L'augmentation de la fréquence des feux, outre la disparition des espèces trop lentes à recoloniser le milieu, risque d'appauvrir le sol en matière organique et en nutriments, d'altérer les fonctions microbiennes minéralisatrices et, à terme, de mettre en péril la dynamique de la végétation et l'intégrité des écosystèmes. La quantité de matière organique, sa qualité chimique et son accessibilité, sont des facteurs-clés de la dynamique microbienne des sols dégradés et de leur reconstitution (Young *et al.*, 2005). Ainsi, l'apport de composts sur ces sols dégradés peut être une solution efficace pour restaurer leur qualité.

Dans ce contexte, les objectifs de la thèse étaient de contribuer 1) à l'évaluation précise des effets des incendies récurrents sur la capacité de résilience des caractéristiques chimiques et des propriétés microbiennes des sols, 2) à l'identification des principaux facteurs impliqués dans la résilience des propriétés microbiennes et 3) à l'évaluation de l'efficacité d'apports de composts pour favoriser la restauration de la qualité des sols. Pour cela, 27 parcelles situées dans le massif des Maures (Var) ont été sélectionnées compte tenu de leur histoire d'incendies en nombre de feux (de 1 à 4), en période écoulée entre 2 feux (de 5 à 28 ans) et depuis le dernier feu (plus de 57 ans, 17 ans, 4 ans et 10 mois). Les effets des régimes d'incendies répétés sur la dynamique de retour des propriétés chimiques et microbiologiques des sols ont d'abord été étudiées et les résultats présentés et discutés dans les chapitres 3 et 4 de cette thèse. L'élaboration d'un indice d'histoire d'incendie, présenté dans le chapitre 4, a, en outre, permis d'identifier les écosystèmes en déséquilibre avec le régime d'incendie et les écosystèmes de référence qui fixent les objectifs d'une restauration. Les effets des incendies récurrents sur les capacités de résistance et de résilience des fonctions microbiennes à des stress hydriques supplémentaires ont été présentés dans le cinquième chapitre. L'identification des principaux facteurs abiotiques qui contrôlent la stabilité des fonctions microbiennes vis-à-

vis de la perturbation et des stress ont été étudiés par des approches corrélatives (chapitre 3 et 4) et expérimentales (chapitre 5). Une expérimentation de terrain a finalement été conduite afin d'étudier l'efficacité de restauration d'apports de composts sur les sols dégradés (chapitre 6). Les principaux résultats de ces chapitres sont synthétisés ci-dessous.

7.1. Vulnérabilité des écosystèmes méditerranéens aux perturbations et stress récurrents : rôle de la ressource

Les perturbations (incendies, tornades, chablis, attaques d'insectes...) peuvent être définies comme des évènements séparés dans le temps qui entraînent une rupture brutale et imprévisible dans l'écosystème et qui remettent en cause son organisation, c'est-à-dire qui lui font dépasser ses capacités de résistance et de régulation. Elles affectent l'intégrité physique du milieu et la disponibilité de ressources, et modifient la structure des populations, des communautés et de l'écosystème (Pickett et White, 1985). A l'échelle du paysage, les perturbations créent une mosaïque de nouveaux milieux qui permettent l'installation d'espèces spécialisées et favorisent une biodiversité élevée. Les stress environnementaux (sécheresses, canicules, salinité…) sont des facteurs internes ou externes à l'écosystème dont l'intensité affecte les traits d'histoire de vie (croissance, reproduction, longévité…) et le comportement des organismes et, par ces réponses, affecte tous les niveaux d'organisation écologique (individus, populations, communautés et processus) (Barrett *et al.* 1976). Le stress imposé à un système active ou développe une réponse adaptative ou d'atténuation dont l'intensité dépend de l'état du système (stabilité, vulnérabilité). Smithers et Smit (1997) ont indiqué que dans le cas d'un stimulus naturel, comme ceux d'ordre climatique, l'adaptation diffère selon la fréquence, la durée, la soudaineté et l'amplitude des phénomènes.

En écologie, la résilience est une notion utilisée pour désigner le temps de retour à l'équilibre d'un système après une perturbation ou un stress. Depuis les années 1970, sa définition a beaucoup changé. Celle qui est communément admise aujourd'hui est formulée par Holling (1973), qui définit la résilience comme la capacité d'un système à pouvoir intégrer dans son fonctionnement une perturbation ou un stress, sans pour autant changer de structure qualitative. Cette définition traditionnelle de la résilience repose sur l'idée d'un système en équilibre stable dont le comportement est prévisible, et dans cette acception, la

résilience devient équivalente à la notion de stabilité d'un système autour d'un point d'équilibre. L'acception récente de la résilience, repose sur l'idée, qu'après une perturbation ou un stress, le système n'est pas marqué par un retour à l'équilibre, expression d'un comportement de résistance, mais réagit au contraire de manière souvent positive, créatrice, grâce à de multiples changements et réajustements. La résilience est la propriété d'un système qui, adaptant sa structure au changement, conserve néanmoins la même trajectoire après la perturbation ou le stress. Ainsi, le système préserve sa structure qualitative. Le terme de résilience implique donc que le système maintienne sa structure et assure sa continuité, non pas en préservant un équilibre immuable ou en revenant au même état qu'avant la perturbation, mais au contraire en intégrant des transformations, en évoluant. Dans cette perspective le changement, et la perturbation/stress qui le déclenche, sont des éléments inévitables et parfois nécessaires à la dynamique du système et à son maintien. Selon cette approche, la perturbation n'est pas forcément un "traumatisme", mais au contraire partie prenante du fonctionnement, même si localement, à l'intérieur du système, les effets peuvent être difficiles à assimiler par certains de ses organismes.

Ce travail de recherche a bénéficié d'un plan d'expérience *in-situ* robuste et offrant une grande variété d'histoires d'incendies naturels. Durant cette expérimentation un grand nombre de paramètres chimiques (teneurs en eau, en nutriments et en carbone ; pH ; spectrométrie des sols et de la matière organique) et microbiologiques (activités respiratoires, enzymatiques et minéralisatrices ; biomasse microbienne ; profils et diversités cataboliques ; stabilité fonctionnelle) a été étudié afin de cerner au mieux la qualité des sols soumis aux incendies naturels récurrents.

Les observations de terrain ont permis de souligner différentes réponses microbiennes aux régimes d'incendies considérés. Tout d'abord, sans surprise, la totalité des activités microbiennes est restée fortement impactée 4 ans après le dernier feu et ceci sans différence entre les feux fréquents et peu fréquents. Les effets des incendies récurrents sur la dynamique de retour n'ont été mesurés que sur quelques paramètres microbiens (nitrification nette, profils cataboliques, activités FDA hydrolase et phénol-oxydase) 17 ans après les feux. Les régimes de feux fréquents, par opposition aux faibles fréquences, ont ralenti la dynamique de retour des activités enzymatiques extracellulaires. En revanche, ces feux répétés ont favorisé la résilience de la nitrification nette et des profils cataboliques microbiens. Un indice d'histoire d'incendie (WHI) a été élaboré pour intégrer les différents paramètres de feux (nombre de

feux, temps écoulé depuis le dernier feu et intervalles entre les feux) et prendre en compte la sensibilité des propriétés biochimiques et microbiologiques soumises à des feux répétés, en particulier lorsque les feux sont récents. Les régressions calculées entre cet indice et les fonctions microbiennes ont permis de déterminer les histoires d'incendie 'seuils' qui séparent les sols en équilibre avec les régimes d'incendie (NB-1950 ; IB-1990) des sols en déséquilibre avec le feu (FB-1990 ; IB-2003 ; FB-2003). Ce seuil varie selon les activités entre 1 et 2 feux en 25 ans.

Dans ce travail de thèse, les réponses adaptatives aux stress hydriques ont été évaluées par des mesures de résilience fonctionnelle en tenant compte de l'histoire de perturbation du système par les incendies. Les régimes d'incendies répétés ou récents, en affectant les communautés microbiennes en taille, en activité et en diversité fonctionnelle (C.f. Chapitre 3) et, en diminuant la quantité et la qualité des ressources organiques et minérales (C.f. Chapitre 3 et 4), sont alors supposés être de nature à abaisser les seuils de tolérance des communautés microbiennes et de leurs fonctions aux stress hydriques. La réponse fonctionnelle à un seul stress hydrique reflèterait les effets de la perturbation sur la sélection de populations microbiennes adaptées aux stress. La réponse fonctionnelle à un stress hydrique après une succession de cycles de dessiccation/ré-humectation reflèterait soit la sélection des espèces adaptées et donc plus résistantes au stress, soit la capacité d'adaptation des populations sélectionnées par les incendies.

Si les fonctions microbiennes des sols récemment et fréquemment incendiés sont particulièrement vulnérables à une perturbation supplémentaire, elles ont été en revanche plus résistantes aux stress hydriques. L'application en conditions contrôlées d'un cycle de dessiccation et de ré-humectation a réduit la biomasse microbienne active de prêt de 20% et engendré une augmentation de la respiration basale et des activités cellulases, FDA hydrolases et phosphatases. Il a été suggéré que la mortalité des espèces sensibles au feu aurait pu favoriser la prolifération et l'activité des espèces résistantes, en diminuant la compétition et en facilitant leur accès aux ressources. Les feux fréquents ont diminué la résilience de la respiration basale mais les effets du régime d'incendie sur la résilience des activités enzymatiques après un stress hydrique ont varié selon l'enzyme considérée. A l'opposé des activités cellulases, la FDA hydrolase a montré une forte capacité de résilience quel que soit le régime d'incendie et malgré une diminution de la diversité fonctionnelle par les feux récurrents. Ce résultat suggère une forte redondance fonctionnelle des communautés microbiennes dans les sols fréquemment incendiés. En outre la répétition des stress hydriques

se traduirait par un nouveau contexte sélectif : Les bactéries zymogènes en plein développement à la suite d'un feu récent seraient affectées au profit des quelques espèces stratèges K, survivantes aux incendies, redondantes et plus résistantes aux stress.

Les fonctions chimiques de la matière organique ont été des indicateurs généralement plus sensibles aux effets à court terme des régimes d'incendie récurrents que les activités microbiennes et les caractéristiques chimiques plus globales (nutriments, COT…). Sans surprise les teneurs en matière organique et en nitrates, ainsi que le pH des sols, sont restés faibles, 4 ans après le dernier feu, mais sans différence entre les régimes d'incendies peu fréquents et fréquents. Or malgré la restauration de ces teneurs après 17 ans, la spectroscopie du proche infra-rouge a permis de révéler une modification durable de la qualité globale des sols fréquemment incendiés. L'analyse fine de la matière organique des sols par RMN du solide du ^{13}C a montré une altération par les feux fréquents de la dynamique de retour à court et à long terme des groupements carbonés alkyles, O-alkyles, aromatiques et phénoliques.

Les relations entre la disponibilité de certaines ressources et les dynamiques de retour des fonctions microbiennes ont été étudiées par des approches corrélatives. Le retour des activités minéralisatrices de l'azote, de la biomasse microbienne et des activités enzymatiques extracellulaires est fortement corrélé aux teneurs en matières organiques et aux groupements C-H des structures aliphatiques et C=C des structures aromatiques. Les fortes co-structures mesurées entre les profils cataboliques et les caractéristiques spectroscopiques des sols dans le proche et le moyen infra-rouge ont également révélé le rôle limitant de la quantité et de la qualité de la matière organique, dans le retour à court et à long terme, après des incendies fréquents des capacités cataboliques des communautés microbiennes. Les faibles teneurs en nitrate concomitantes à une aromatisation de la matière organique dans les sols récemment brûlés ont généré une minéralisation préférentielle des substrats azotés. A plus long terme, malgré la durabilité de l'aromatisation sous le régime d'incendies fréquents, la restauration des teneurs en nitrate, via l'augmentation de la nitrification nette, a facilité le retour des profils cataboliques, en comblant la forte demande microbienne en azote.

Les travaux de Hart *et al.*, (2005) supposent que le facteur qui contrôle principalement les communautés microbiennes et leurs activités après feu, est la végétation post-incendie. La qualité et la quantité des apports de cette végétation mais également les relations de compétition et de facilitation entre plantes et micro-organismes seraient donc bien plus importantes que l'effet direct du feu sur ces communautés (Figure 1.4). Le rôle des

métabolites secondaires (polyphénols type tanins condensés) apportés par les espèces pionnières, principalement les cistes, dans la succession post-incendie devrait être étudié. Ces apports seraient de nature à contrôler l'activité microbienne notamment en ralentissant la minéralisation des ressources, en formant des complexes protéine-tanin limitant ainsi la disponibilité de l'azote. Cependant certains travaux tendraient à montrer dans les sols pauvres en azote, une adaptation de certaines communautés microbiennes telles que les ectomycorhizes (ECM) associées aux espèces végétales pionnières seraient capable de minéraliser l'azote sous cette forme complexée (Northup *et al.*, 1995).

Un nombre important de feux en modifiant la structure des communautés végétales, et donc la nature des apports, influencerait indirectement les communautés microbiennes et leurs fonctions. Cependant, l'intensité des feux de 2003 a été probablement très forte pour cette année de canicule, en témoigne les faibles quantités et qualités de la matière organique retrouvée 4 ans après ces feux. La dynamique de retour de taille des communautés et des fonctions qu'elles exercent sont contraintes par la faible disponibilité des ressources. Par ailleurs, la stabilité des fonctions microbiennes diminue lorsque le nombre de stress augmente principalement limitée par cette ressource. Un apport de ressource important en conditions contrôlées de laboratoire (Chapitre 5) a montré que la ressource limitait ces communautés microbiennes en taille et en fonctionnalités. Les tests réalisés dans des conditions optimales de laboratoire ont prouvé le rôle limitant de la ressource sur ces propriétés microbiennes. Cependant, comme l'atteste les résultats de stabilité des activités respiratoires après un stress, l'apport de ressource a probablement modifié les communautés microbiennes les rendant plus résistantes aux stress mais peu résilientes. La ressource (organique et minérale) est le facteur le plus important dans la dynamique de retour des communautés microbiennes, mais ses effets sont probablement en interaction avec les processus écologiques (relations plante-sol), les conditions abiotiques (climat, fluctuations saisonnières etc…) et les conditions édaphiques de la zone considérée (roche mère, structure, texture etc…).

7.2. Pertinence de la démarche et des indicateurs retenus pour étudier l'évolution de la qualité des sols incendiés

La restauration écologique d'un écosystème dégradé est une action intentionnelle qui initie ou accélère l'autoréparation d'un écosystème en respectant sa santé, son intégrité et sa gestion durable (SER, 2004). Une étape cruciale d'un projet de restauration est la sélection

d'un écosystème de référence. Celui-ci a été défini par Le Floc'h et Aronson (1995) comme une approximation de l'état souhaitable, une norme choisie parmi plusieurs états alternatifs possibles et accessibles par une succession d'étapes appelée trajectoire.

La grande majorité des indicateurs de la qualité des sols a montré que les écosystèmes non brûlés depuis au moins 1950 (NB-1950) et ceux qui ont subi 1 ou 2 feux anciens, dans les cinquante dernières années (IB-1990), sont en équilibre avec le régime d'incendie. Cependant, en absence de régimes plus anciens dans notre plan d'expérience, il n'est pas certain que le régime NB-1950 constitue l'optimum réel de fonctionnement de l'écosystème méditerranéen (diversité, stabilité, productivité, etc…), mais un palier dans l'évolution des forêts méditerranéennes, vers un niveau optimal de fonctionnement. En revanche, il existerait selon Connell (1978) un niveau de perturbation intermédiaire (« Intermediate disturbance hypothesis ») pour lequel la diversité globale serait maximale et la stabilité et la productivité optimales. Dans ce cas, le régime NB-1950 pourrait constituer l'optimum recherché et les régimes plus anciens seraient caractérisés par une régression du fonctionnement de l'écosystème. Des recherches futures devront se focaliser sur une chrono-séquence plus longue.

Des sols qui n'ont pas brûlé depuis au moins 200 ans constituent dans le massif des Maures de rares reliques forestières qui correspondraient, dans le diagramme d'Aronson *et al.* (1993) (Figure 1.5), à un écosystème potentiel. Cet écosystème serait d'après Aronson *et al.* (1993) engendré par la suppression des causes de dégradation ou la ré-application, en région méditerranéenne, des usages traditionnels tels que l'écobuage, le débroussaillage et le pastoralisme. Ces écosystèmes possèdent une structure de vieille forêt dominée par le chêne blanc et le chêne vert. Cependant, leur préservation est liée à la proximité des habitations humaines, ou par leur localisation particulièrement encaissée dans des vallons avec de très fortes pentes. De ce fait, malgré leurs caractéristiques relatives à une forêt très peu perturbée par le feu (litière accumulée entre 3 et 10 cm d'épaisseur, sol brun sombre, horizons bien différenciés), ces reliques très différentes des parcelles étudiées dans cette thèse par leurs positions topographiques, leur usage et leur entretien continu, ne pourraient pas être pris comme référence, car trop déconnectées des régimes de perturbations actuels.

Les sols qui n'ont pas brûlé depuis au moins 1950 (NB-1950) soutiennent la formation forestière optimale de la suberaie, l'évolution normale étant la régression de ses peuplements

de chênes lièges, au profit d'espèces telles que le chêne blanc et le chêne vert. Cependant, on peut se demander si ce régime d'incendie ne soufre pas d'un manque de données historiques, lorsque l'on voit l'hétérogénéité des réponses dans nos résultats. En effet, les incendies avant 1950 ont pu avoir lieu à différentes dates, ce qui modifie le paramètre temps depuis le dernier feu, qui est important dans l'évaluation des effets du feu. De plus, l'influence des facteurs environnementaux augmente avec le temps depuis le dernier feu, ce qui a abouti à des formations végétales variables. Cependant, les meilleures activités microbiennes liées à une ressource abondante et disponible placent ces écosystèmes au premier rang des écosystèmes de référence pour une restauration des sols dégradés.

Les sols qui ont subi en moyenne un feu tous les 25 ans, mais dont le dernier est relativement ancien (i.e. régime IB-1990), constitueraient le régime d'incendie normal dans le contexte écologique actuel (Vennetier *et al.*, 2008). Malgré la dégradation de certaines caractéristiques chimiques et microbiologiques des sols à court terme (IB-2003), la plupart des propriétés édaphiques se restaurent naturellement pour atteindre en 17 ans le niveau des écosystèmes de référence.

Les sols fréquemment incendiés (i.e. régimes FB-1990 et FB-2003) ont présenté un ralentissement de la dynamique de retour à court et long terme d'un certains nombre de propriétés chimiques et microbiologiques. Par conséquent, nous considérons que ces écosystèmes sont dégradés et peuvent bénéficier d'une action de restauration.

L'approche diachronique utilisée dans cette étude nous a ainsi permis d'étudier la dynamique de retour de la qualité des sols soumis à des régimes d'incendie peu fréquents et fréquents. Cependant, les régimes étudiés dans ce travail ne permettent pas de montrer le caractère irréversible des régimes fréquents. Ainsi, l'identification d'un seuil d'irréversibilité de la perturbation nécessitera d'intégrer dans les travaux ultérieurs des régimes d'incendie avec un nombre de feux plus élevé et des modalités de temps depuis le dernier feu plus nombreuses, notamment entre 17 et 57 ans.

Les indicateurs de la qualité des sols sont des propriétés physiques, chimiques et biologiques, et des processus qui peuvent être mesurés pour surveiller les changements du sol (USDA, 1996). Ces indicateurs doivent permettre d'appréhender les fonctions essentielles du sol et d'évaluer leur qualité biologique, physique ou chimique. Les indicateurs utilisés dans une démarche d'évaluation des effets des incendies en région méditerranéenne doivent être

sensibles à la fréquence de cette perturbation et permettre d'appréhender les fonctions essentielles du sol.

Nos résultats ont montré des réponses variables des indicateurs utilisés aux régimes d'incendies. En effet, certains se sont avérés sensibles aux faibles fréquences tandis que d'autres ont été insensibles même aux fortes fréquences. Ainsi, les résultats ont démontré, parmi les indicateurs microbiologiques, que les activités respiratoires, basale et induite, phosphatases et β-glucosidases étaient beaucoup moins sensibles aux incendies fréquents que la nitrification nette, les profils cataboliques et les activités phénol-oxydase et FDA hydrolase et par conséquent, qu'ils étaient des indicateurs moins pertinents pour évaluer la qualité des sols incendiés. Les activités sensibles aux incendies présentent également l'avantage de supporter la dynamique des cycles biogéochimiques et donc la fertilité des sols. En outre, la mesure de la stabilité des fonctions microbiennes à des stress supplémentaires est également un indicateur pertinent car elle prend en compte dans l'évaluation de la qualité du sol, l'aspect de résilience qui fait défaut aux autres paramètres. Parmi les indicateurs chimiques, la FT-MIR étaient moins sensible que la RMN du solide du ^{13}C, plus précise dans la caractérisation des groupements fonctionnels de la matière organique. La FT-NIR s'est avérée être un outil pertinent pour l'évaluation de la vulnérabilité de la qualité des sols et particulièrement efficace pour prédire l'histoire contemporaine des incendies.

7.3. Efficacité de restauration de la qualité des sols incendiés

Les caractéristiques édaphiques du régime NB-1950 ont été retenues pour fixer les objectifs de restauration. Ce régime présente à la fois une qualité chimique et microbiologique optimale des sols et la plus forte variabilité spatiale. En revanche, les sols des régimes FB-1990 et FB-2003, et par extension tous les sols plus fréquemment et plus récemment incendiés, peuvent bénéficier d'une restauration par un apport de ressources.

L'apport de composts que nous avons réalisé sur le terrain a permis de tester expérimentalement l'hypothèse selon laquelle la qualité d'un compost (i.e. maturité) serait adapté à un niveau de dégradation et donc à un régime d'incendie donné. La dose unique de 70 tonnes par hectare de matière sèche apportée sur une surface réduite de 1 mètre carré a été choisie pour garantir des effets et tester cette hypothèse. Dix mois après l'apport des composts sur les sols, les teneurs en C, en N et en nutriments, le pH et les teneurs en eau ont augmenté

significativement d'autant plus fortement que les composts sont matures mais indépendamment du régime de feu. Ces modifications de qualité chimique s'accompagnent d'une restauration des activités enzymatiques et de la nitrification nette. En revanche, l'apport des composts matures et riches en azote ont modifié les profils cataboliques microbiens sans toutefois permettre leur restauration. L'efficacité de restauration de l'activité phosphatase alcaline et de la nitrification nette dépend d'un apport de compost dont la qualité doit être raisonnée en fonction du régime d'incendie. Les modalités 'qualité/régime' de restauration efficace sont cependant différentes selon les activités considérées. Par ailleurs, l'apport de compost a augmenté l'intensité de la respiration basale microbienne immédiatement après un stress hydrique et a diminué la résilience de cette fonction suggérant une importante mortalité et donc une plus forte vulnérabilité des communautés microbiennes.

La ressource du sol, en particulier la matière organique, joue un rôle majeur dans le fonctionnement microbien des sols incendiés. La ressource carbonée limitée dans les sols fréquemment incendiés serait toutefois moins limitante que l'azote inorganique qui contrôle la dynamique de retour des propriétés microbiennes. L'azote est d'ailleurs largement reconnu pour sa faible disponibilité dans les écosystèmes méditerranéens en particulier dans les sols incendiés. L'apport de composts a remédié à cette faible disponibilité en azote mais également en carbone et surtout en phosphore. Cependant, malgré cette fertilisation évidente et des effets positifs sur l'humidité des sols, les processus microbiens ont été faiblement modifiés. Des mesures à plus long terme permettraient de vérifier l'efficacité de la restauration par les apports de composts de l'ensemble des propriétés microbiennes. Nos résultats révèlent un risque potentiel d'eutrophisation des sols en particulier par un apport conséquent de phosphore inorganique. Outre ce risque, des effets toxiques sur certaines composantes biologiques sont possibles (faune, végétation mais aussi microbiologique) et seraient donc à vérifier avant toute mise en œuvre à grande échelle. Ainsi, le respect des normes en vigueur serait à préconiser même si elles ne s'appliquent normalement qu'à des sols agricoles. Il est évident que dans une utilisation à une plus large échelle, l'effet de la maturité de compost devrait être croisé avec la dose apportée en particulier pour le compost immature dont l'innocuité serait à démontrer.

Conclusion Générale

Conclusion générale

Les objectifs de la thèse étaient d'évaluer les effets des incendies récurrents sur la capacité de résilience des propriétés microbiennes des sols, d'identifier les principaux facteurs impliqués dans la résilience des propriétés microbiennes et enfin d'évaluer l'efficacité d'apports de composts pour favoriser la restauration de la qualité des sols.

Nous avons supposé que les écosystèmes méditerranéens étaient en équilibre avec le feu jusqu'à une certaine limite qui dépendrait de la fréquence des incendies. Une fréquence trop élevée pourrait en effet altérer les sols en terme de ressource et de potentialité microbienne jusqu'à un point où la résilience des sols pourrait être compromise. Au-delà d'un certain seuil critique, la qualité des sols est donc supposée être impactée de manière durable.

Une période sans feu de 4 ans est de toute évidence trop courte pour une restauration naturelle de la qualité chimique des sols et des fonctions microbiennes et ceci quelle que soit l'histoire d'incendie. A plus long terme, les feux fréquents modifient durablement la qualité chimique de la matière organique des sols en la rendant peu disponible pour la minéralisation microbienne. Cependant, les micro-organismes montrent une importante redondance fonctionnelle et maintiennent de fait de nombreuses fonctions essentielles de minéralisation même après des stress supplémentaires. La disponibilité de la ressource, en qualité et en quantité, a été identifiée comme le facteur de contrôle majeur du fonctionnement microbien des sols dans la succession post-incendie. L'azote sous sa forme minérale serait d'ailleurs un facteur clé dans la résilience des fonctions microbiennes des sols méditerranéens. Le régime d'incendies seuil varie entre 1 et 2 feux en 25 ans selon les indicateurs microbiens, alors que l'analyse de la qualité chimique fixe ce seuil à 2 feux en 25 ans. Cette qualité est en effet modifiée durablement malgré une reconstitution des teneurs en matière organique. Les sols qui n'ont pas brûlés depuis plus de 50 ans ont présenté une qualité chimique et microbiologique optimale. De fait ils constituent la meilleure référence pour évaluer l'efficacité d'une restauration. L'apport de ressource sous la forme de compost, sur les sols incendiés doit tenir compte de la qualité de ces apports et du niveau de dégradation. Dans notre étude, le compost mature plus riche en matière organique, a reconstitué les teneurs en C, N et P et modifié la qualité chimique des matières organiques. Cependant, malgré la restauration de la ressource des sols incendiés, la stabilité à un stress hydrique a été défavorisée. Les fonctions environnementales affectées par la perturbation doivent donc être identifiées pour raisonner ces apports.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Aarts, B.G.W., Nienhuis, P.H., 1999. Ecological sustainability and biodiversity. International Journal of Sustainable Development and World Ecology 6, 89-102.

Adani, F., Genevini, P., Ricca, G., Tambone, F., Montoneri, E., 2007. Modification of soil humic matter after 4 years of compost application. Waste Management 27, 319-324.

Adams, M.A., Attiwill, P.M., 1984. Patterns of nitrogen mineralization in 23-year old pine forest following nitrogen fertilizing. Forest Ecology and Management 7, 241-248.

Adam, G., 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.

Aerts, R., 1995. The advantages of being evergreen. Trends in Ecology and Evolution 10, 402-407.

AFNOR, 1995. NF ISO 10694 / NF X31-409. Qualité du sol - Dosage du carbone organique et du carbone total après combustion sèche (analyse élémentaire). Thème : Propriétés chimiques des sols. Juin. 12 p.

AFNOR, 1995. NF ISO 13878 / X31-418. Qualité du sol - Détermination de la teneur totale en azote par combustion sèche ("analyse élémentaire"). Thème : Propriétés chimiques des sols. Juillet. 12 p.

AFNOR. 1996. Qualité des sols. Recueil des normes françaises. Association française de normalisation, Paris. 534 p.

Ajwa, H.A., Dell, C.J., Rice, C.W., 1999. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization. Soil Biology and Biochemistry 31, 769-777.

Akma, H., Raison R.J., Khanna P.K., 1995. Effects of fertilizer application and fire regime on soil microbial biomass carbon and nitrogen, and nitrogen mineralization in an Australian subalpine eucalypt forest. Biology and Fertility of Soils 19, 246-252.

Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., Ingelmo, F., 2001. Organic matter components and aggregate stability after the application of different amendments to a horticultural soil. Bioresource Technology, 76, 125-129.

Albrecht, R., 2007. Co-compostage de boues de station d'épuration et de déchets verts: nouvelle méthodologie du suivi des transformations de la matière organique. Thèse de l'Université Paul Cézanne, 189p.

Allard, V., Ourcival, J.M., Rambal, S., Joffre, R., Rocheteau, A., 2008. Seasonal and annual variation of carbon exchange in an evergreen Mediterranean forest in southern France. Global Change Biology 14, 714-725.

Allison, S.D., Vitousek, P.M., 2005. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. Soil Biology and Biochemistry 37, 937-944.

Allison, S.D., Martiny, J.B.H., 2008. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A. 105, 11512-11519.

Almendros, G.,Martin, F.J.,Gonzalez-Vila, F.J., 1988. Effects of fire on humic and lipid fractions in a Dystric Xerochrept in Spain. Geoderma 42, 115-127.

Almendros, G., Gonzalez-Vila, F.J., Martin, F., 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.

Almendros, G., Gonzalez-Vila, F.J., Martin, F., Frund, R., Ludemann, H.-D., 1992. Solid state NMR studies of fire-induced changes in the structure of humic substances. Science of the Total Environment 117/118, 63-74.

Amouric H., 1985. Les incendies de forêts autrefois. DATAR (M.I.P.A.E.N.M.), 1-251.

Annabi, M., 2005. Stabilisation de la structure d'un sol limoneux par des apports de composts d'origine urbaine: relation avec les caractéristiques de leur matière organique. Thèse de l'institut National Agronomique Paris-Grignon. 280p.

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

Anderson T.-H., Domsch, K.H., 1990. Application of eco-physiological quotients (qCO2 and qD) on microbial biomass from soils of different cropping histories. Soil Biology and Biochemistry 22, 251-255.

Anderson, M.J., Gorley, R.N., Clarke, K.R., 2008. PERMANOVA+ for PRIMER : guid to software and statistical methods. PRIMER-R: Plymouth, UK.

Andersson, A., Michelsen, A., Jensen, M., Kjøller, A., 2004. Tropical savannah woodland: effects of experimental fire on soil microorganisms and soil emissions of carbon dioxide. Soil Biology and Biochemistry 36, 849-858.

Aparecida, S., Fernandes, P., Bettiol, W., Cerri, C.C., 2005. Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. Applied Soil Ecology 30, 65-77.

Aronson, J., Floret, C., Le Floc'h, E., Ovalle C., Pontanier, R., 1993. Restoration and rehabilitation of degraded ecosystems in arid and semi-arid lands. I. A view from the South. Restoration Ecology 1, 8-17.

Artz, R.R.E., Chapman, S.J, Robertson, A.H.J., Potts, J.M., Laggoun-Defarge, F., Gogo, S., Comont, L., Disnar, J.R., Francez, A.J., 2008. FTIR spectroscopy can be used as a screening tool for organic matter quality in regenerating cutover peatlands. Soil Biology and Biochemistry 40, 515-527.

Artz, R.R.E., Reid, E., Anderson, I.C., Campbell, C.D., Cairney, J.W.G., 2009. Long term repeated prescribed burning increases evenness in the basidiomycete laccase gene pool in forest soils. FEMS Microbiology Ecology 67, 397-410.

Atlas, R.M., 1984. Use of microbial diversity measurements to assess environmental stress. In: Klug, M.J. and Reddy, C.A. (eds), Current perspectives in microbial ecology. American Society for Microbiology, Washington. pp. 540 - 545.

Atlas, R.M., Horowitz, A., Krichevsky, M., Bej, A.K., 1991. Response of microbial populations to environmental disturbance. Microbial Ecology 22, 249-256.

Bååth, E., 1989. Effects of heavy-metals in soil on microbial processes and populations (a review). Water Air and Soil Pollution 47, 335-379.

Bååth, E., Frostegard, A., Pennanen, T., Fritze, H., 1995. Microbial community structure and pH response in relation to soil organic matter quality in wood-ash fertilized, clear-cut or burned coniferous forest soils. Soil Biology and Biochemistry 27, 229-240.

Badìa, D., Martì, C., 2003. Plant ash and heat intensity effects on chemical and physical properties of two contrasting soils. Arid Land Research and Management 17, 23-41.

Baldock, J.A., Oades, J.M., Nelson, P.N., Skene, T.M., Golchin, A., Clarke., P., 1997. Assessing the extent of decomposition of natural 13 organic materials using solid-state 13C NMR spectroscopy. Australian Journal of Soil Research 35, 1061–1083.

Baldock, J.A., Masiello, C.A., Gelinas, Y., Hedges, J.I., 2004. Cycling and composition of organic matter in terrestrial and marine ecosystems. Marine Chemistry 92, 39–64.

Baldrian, P., 2006. Fungal laccases – occurrence and properties. FEMS Microbialogy Reviews 30, 215-242.

Baldrian, P., Valaskova, V., 2008. Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. FEMS Microbialogy Reviews 32, 501-521.

Barajas-Aceves, M., Grace, C., Ansorena, J., Dendooven, L., Brooks, P.C., 1999. Soil microbial biomass and organic C in a gradient of zinc concentrations in soils around a mine spoil tip. Soil Biology and Biochemistry 31, 867-876.

Barbero, M., Loisel, R., Quézel, P., 1988. Perturbations et incendies en région méditerranéenne française. 409-419.

Barbero, M., 1990 Méditerranée : bioclimatologie, sclérophyllie, sylvigenèse. Ecologia Mediterranea XVI, 1-12.

Bardgett, R.D., Freeman C., Ostle, N.J., 2008. Microbial contributions to climate change through carbon cycle feedbacks. International Society for microbial Ecology 2, 805-814.

Barnard, R., Barthes, L., Le Roux, X., Leadley, P.W., 2004. Dynamics of nitrifying activities, denitrifying activities and nitrogen in grassland mesocosms as altered by elevated CO2. The New Phytologist 162, 365-376.

Barrett, G.W., van Dyne G.M. Odum, E.P., 1976. Stress ecology. BioScience 26, 192-194.

Bastias, B.A., Huang, Z.Q., Blumfield, T., Xu, Z., Cairney, J.W.G., 2006. Influence of repeated prescribed burning on the soil fungal community in an eastern Australian wet sclerophyll forest. Soil Biology and Biochemistry 38, 3492-3501.

Baldock, J.A., Oades, J.M., Nelson, P.N., Skene, T.M., Golchin, A., Clarke., P., 1997. Assessing the extent of decomposition of natural 13 organic materials using solid-state ^{13}C NMR spectroscopy. Australian Journal of Soil Research 35, 1061–1083.

Beare, M.H., Neely, C.L., Coleman, D.C., 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.

Bellon-Maurel, V., Orliac O., Christen, P., 2003. Sensors and measurements in solid-state fermentation: a review. Process Biochemistry 38, 881-896.

Bergner, B., Johnstone, J., Treseder, K.K., 2004. Experimental warming and burn severity alter soil CO_2 flux and soil functional groups in a recently burned boreal forest. Global Change Biology 10, 1996–2004.

Bever, J.D., 2003. Soil community feedback and the coexistence of competitors: conceptual frameworks and empirical tests. New Phytologist 157, 465-473.

Blagodatskaya, E.V., Anderson, T.-H., 1998. Interactive effects of pH and substrate quality on the fungal-to-bacterial ratio and qCO_2 of microbial communities in forest soils. Soil Biology and Biochemistry 30, 1269-1274.

Boerner, R.E.J., Decker, K.L.M., Sutherland, E.K., 2000. Prescribed burning effects on soil enzyme activity in a southern Ohio hardwood forest: a landscape-scale analysis. Soil Biology and Biochemistry 32, 899-908.

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.

Boerner, R.E.J., Brinkman, J.A., Sutherland, E.K., 2004. Effects of fire at two frequencies on nitrogen transformations and soil chemistry in a nitrogen-enriched forest landscape. Canadian Journal of Forest Research 34, 609-618.

Boix Fayos, C., 1997. The roles of texture and structure in the water retention capacity of burnt Mediterranean soils with varying rainfall. Catena 31, 219-236.

Borken, W., Muhs, A., Beese, F., 2002. Application of compost in spruce forest: effect on soil respiration, basal respiration and microbial biomass. Forest Ecology and Management 159, 49-58.

Borken, W., Matzner E., 2009. Reappraisal of drying and wetting effects on C and mineralization and fluxes in soils. Global Change Biology 15, 808-824.

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.

Bouchet, T., 2008. Réponses microbiennes des sols à des évènements extrêmes de type canicule et/ou sécheresse, premières approches expérimentales. Diplôme d'Ingénieur INSA-Lyon, département Biosciences. 47p.

Brunet, D., Barthès, B.G., Chotte, J.L., 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 139, 106–117.

Bugbee, G.J., 1996. Growth of rhododendron, rudbeckia and thujia and the leaching of nitrates as affected by the pH of potting media amended with biosolids compost. Compost science 4, 53-59.

Buisson, E., 2005. Thèse en Ecologie de la restauration. Université Paul Cézanne, 193p.

Buhk, C., Götzenberger, L., Wesche, K., Sánchez Gómez, P., Hensen, I., 2006. Post-fire regeneration in a Mediterranean pine forest with historically low fire frequency. Acta Oecoligica 30, 288-298.

Cade-Menun, B.J., Berch, S.M., Preston, C.M., Lavkulich, L.M., 2000. Phosphorus forms and related soil chemistry of podzolic soils on Northern Vancouver Island II. The effects of clear-cutting and burning. Canadian Journal of Forest Research 30, 1726-1741.

Cadet, P., Thioulouse, J., 1998. Identification of soil factors that relate to the structure of the plant parasitic nematode community. Applied Soil Ecology 8, 35-49.

Caldwell, B.A., 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. Pedobiologia 49, 637-644.

Campbell, C.D., Cameron, C.M., Bastias, B.A., Chen, C., Cairney, J.W.G., 2008. Long term repeated burning in a wet sclerophyll forest reduces fungal and bacterial biomass and responses to carbon substrates. Soil Biology and Biochemistry 40, 2246–2252.

Campo, J., Andreu, V., Gimeno-García, E., González, O., Rubio, J.L., 2006. Occurrence of soil erosion after repeated experimental fires in a Mediterranean environment. Geomorphology 82, 376-387.

Calderón, F.J., Jackson, L.E., Scow, K.M., Rolston, D.E., 2001. Short-term dynamics of nitrogen, microbial activity, and phospholipid fatty acids after tillage. Soil Science Society of America Journal 65, 118-126.

Caravaca, F. Figueroa, D. Alguacil, M.M., Roldán, A., 2003. Application of composted urban residue enhanced the performance of afforested shrub species in a degraded semiarid land. Bioresource Technology 90, 65-70.

Carreira, J.A., Niell, F.X., 1992. Plant nutrient changes in a semi-arid Mediterranean shrubland after fire. Journal of Vegetable Science 457-466.

Carreira, J.A., Arevalo, J.R., Niell, F.X., 1996. Soil degradation and nutrient availability in fire-prone Mediterranean shrublands of southestern Spain. Arid Soil Research and Rehabilitation 10, 53-64.

Carreira, J.A., Harrison, A.F., Sheppard, L.J., Woods, C., 1997. Reduced soil P availability in a Sitka spruce (Picea sitchensis (Bong.) Carr) plantation induced by applied acid-mist: significance in forest decline. Forest Ecology and Management 92, 153-166.

Carreiro, M.M., Sinsabaugh, R.L., Repert, D.A., Paarkhurst, D.F., 2000. Microbial enzyme shifts explain litter decay responses to simulated nitrogen deposition, Ecology, 81, 2359-2365.

Castells, E., Penuelas, J., 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 Phytol. 162, 187–195.

Cécillon, L., 2008. Quels indicateurs pour évaluer la qualité de sols forestiers soumis à des contraintes environnementales fortes ? Thèse de l'Université Joseph Fourier de Grenoble. 215 p.

Cécillon, L., Cassagne, N., Czarnes, S., Gros, R., Brun, J.J., 2008. Variable selection in near infrared spectra for the biological characterization of soil and earthworm casts. Soil Biology and Biochemistry 40, 1975–1979.

Cécillon, L., Cassagne ,N., Czarnes, S., Gros, R., Vennetier, M., Brun, J.J., 2009. Predicting soil quality indices with near infrared analysis in a wildfire chronosequence. Science of the Total Environment. 407, 1200–1205.

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

Certini, G., Forte, C., D'acqui, L.P., Santi, C.A., 2007. Spectroscopic properties of bulk and dichromate oxidation resistant soil organic matter from an anthroposequence in a Mediterranean environment. Plant Soil 291, 55-65.

Challot, A., 2004. Forêt méditerranéenne et incendies dans l'histoire. Forêt Méditerranéenne tome XXV, n° 4, 249-258.

Chandler, C., Cheney, P., Thomas, P., Trabaud, L., Williams, D. 1983. Forest fire behavior and effects. Fire in Forestry, vol. I. New York: Wiley, 1983.

Chen, C.R., Condron, L.M., Davis, M.R., Sherlock, R.R., 2003. Seasonal changes in soil phosphorus and associated microbial properties under adjacent grassland and forest in New Zealand. Forest Ecology and Management 177, 539-557.

Cheng, C.-H., Lehmann, J., Thies, J.E., Burton, S.D., Engelhard, M.H., 2006. Oxidation of black carbon by biotic and abiotic processes. Organic Geochemistry 37, 1477-1488.

Chenu, C., Le Bissonnais, Y., Arrouays, D., 2000. Organic matter influence on clay wettability and soil aggregate stability. Soil Science Society of America Journal 64, 1479-1486.

Chiatante, D., di Iorio, A., Scippa, S.G., 2005. Root responses of Quercus ilex L. seedlings to drought and fire. Plant Biosystems 139, 1126-3504

Choromanska, U., DeLuca, T.H., 2001. Prescribed fire alters the impact of wildfire on soil biochemical properties in a ponderosa pine forest. Soil Science Society of America Journal 65, 232-238.

Choromanska, U., DeLuca, T.H., 2002. Microbial activity and nitrogen mineralization in forest mineral soils following heating: evaluation of post-fire effects. Soil Biology and Biochemistry 34, 263-271.

Chotte, J.L., Ladd, J.N., Amato M., 1998. Sites of microbial assimilation, and turnover of soluble and particulate ^{14}C-labelled substrates decomposing in a clay soil. Soil Biology and Biochemistry 30, 205–218.

Claridge, A.W., Trappe, J.M., Hansen, K., 2009. Do fungi have a role as soil stabilizers and remediators after forest fire? Forest Ecology and Management 257, 1063-1069.

Climent, J., Tapias R., Pardos J.A., GIL L., 2004. Fire adaptations in the Canary Islands pine (Pinus canariensis). Plant Ecology 171, 185-196.

Cole, L.C., 1954. The Population Consequences of Life History Phenomena. The Quarterly Review of Biology 29, 103-137.

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

Cook, R.L., Langford, C.H., Yamdagni, R., Preston, C.M., 1996. A modified cross-polarization magic angle spinning 13C NMR procedure for the study of humic materials. Analytical Chemistry 68, 3979– 3986.

Cookson, W.R., Murphy, D.V., Roper, M.M., 2008a. Characterizing the relationships between soil organic matter components and microbial function and composition along a tillage disturbance gradient. Soil Biology and Biochemistry 40, 763-777.

Cookson, W.R., O'Donnell, A.J., Grant, C.D., Grierson, P.F., Murphy, D.V., 2008b. Impact of ecosystem management on microbial community level physiological profiles of postmining forest rehabilitation. Microbial Ecology 55, 321-332.

Corbin, J.D., Thomsen, M.A., Dawson, T.E., D'Antonio, C.M., 2005. Summer water use by California coastal prairie grasses: fog, drought, and community composition. Oecologia 145, 511-521.

Cosentino, D., Chenu, C., Le Bissonnais, Y., 2006. Aggregate stability and microbial community dynamics under drying–wetting cycles in a silt loam soil. Soil Biology and Biochemistry, 38, 2053-2062.

Covington, W.W., DeBano, L.F., Huntsberger,T.G., 1991. Soil nitrogen changes associated with slash pile burning in pinyon-juniper woodlands. Forest Science 37, 347-355.

Covington, W.W., Sackett, S.S., 1992. Soil mineral nitrogen changes following prescribed burning in ponderosa pine. Forest Ecology and Management 54, 175-191.

Coûteaux, M.M., Sarmiento, L., Hervé, D., Acevedo, D., 2005. Determination of soluble and total extractable polyphenolics in biomass, necromass and decomposing plant material using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). Soil Biology and Biochemistry 37, 795-799.

Cozzolino, D., Morón, A., 2006. Potential of near infrared reflectance spectroscopy and chemometrics to predict soil organic carbon fractions. Soil and Tillage Research 85, 78-85.

Crecchio, C., Curci, M., Pizzigallo, M.D.R., Ricciuti, P., Ruggiero P., 2004. Effects of municipal solid waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial genetic diversity. Soil Biology and Biochemistry 36, 1595-1605.

Curt, T., Adra, W., Borgniet, L., 2009. Fire-driven oak regeneration in French Mediterranean ecosystems. Forest Ecology and Management 258, 2127–2135.

Dale V.H., Beyeler S.C., 2001. Challenges in the development and use of ecological indicators. Ecological Indicators 1, 3-10.

Dangi, S.R., Pendall, E., Cleary, M.B., BUYER, J.S., STAHL, P.D., 2010. Recovery of soil microbial community structure after fire in a Sagebrush-grassland ecosystem. Land Degradation and Development DOI: 10.1002/ldr.975.

D'Ascoli, R., Rutigliano, F.A., De Pascale, R.A., Gentile, A., Virzo De Santo, A., 2005. Functional diversity of the microbial community in Mediterranean maquis soils as affected by fires. International Journal of Wildland Fire 14, 355–363.

De Angelis, D.L., Mulholland, P.J., Palumbo, A.V., Steinman, A., Huston, M., Elwood, J., 1989. Nutrient dynamics and food-web stability. Annual Review of Ecology and Systematics 20, 71-95.

DeBano, L.F., Neary, D.G., Ffolliott, P.F., 1998. Fire's effects on ecosystems. New York: John Wiley and Sons, Inc. 333p.

DeBano, L.F., 2000. The role of fire and soil heating on water repellence in wildland environments: a review. Journal of Hydrology 231, 195-206.

Degens, B.P., Schipper, L.A., Sparling G.P., Vojvodic-Vukovic., M., 2000. Decreases in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities. Soil Biology and Biochemistry 32, 189–196.

Degens, B.P., Schipper, L.A., Sparling, G.P., Duncan, L.C., 2001. Is the microbial community in a soil with reduced catabolic diversity less resistant to stress or disturbance? Soil Biology and Biochemistry 33, 1143–1153.

De Las Heras, J., Martínez-Sánchez, J.J., González-Ochoa, A.I., Ferrandis, P., Herranz, J.M., 2002. Establishment of *Pinus halepensis* Mill, sapling following fire: effect of competition whith shrub species. *Acta Oecologica*, 2, 91-97.

DeLuca, T. H., Nilsson, M.C., Zackrisson, O., 2002. Nitrogen mineralization and phenol accumulation along a fire chronosequence in northern Sweden. Oecologia 133, 206-214.

DeLuca, T. H., MacKenzie, M. D., Gundale, M. J., Holben, W. E., 2006. Wildfire-produced charcoal directly influences nitrogen cycling in Ponderosa pine forests.Soil Science Society of America Journal 70,448-453.

Denef, K., Six, J., Bossuyt, H., Frey, S.D., Elliott, E.T., Merckx, R., Paustian,K., 2001. Influence of dry–wet cycles on the interrelationship between aggregate, particulate organic matter, and microbial community dynamics. Soil Biology and Biochemistry 3, 1599-1611.

Deng, S.P., Tabatabai, M.A., 1994. Cellulase activity of soils. Soil Biology and Biochemistry 26, 1347-1354.

Derenne, S., Largeau, C., 2001. A review of some important families of refractory macromolecules: composition, origin, and fate in soils and sediments. Soil Science 166, 833–847.

Diaz, E., Roldan, A., Lax, A., Abalajedo, J., 1994. Formation of stable aggregates in degraded soil by amendment with urban refuse and peat. Geoderma, 63, 277-288.

Dick, R.P., 1997. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. In: C.E. Pankhurst, B.M. Doube and V.V.S.R. Gupta, Editors, *Biological Indicators of Soil Health*, CAB International, Wallingford, UK (1997), pp. 121–156.

Dilly, O., Munch, J.-C., 1998. Ratios between estimates of microbial biomass content and microbial activity in soils. Biology and Fertility of Soils 27, 374-379.

Dinkelaker, B., Marschner, H., 1992. In vivo demonstration of acid phosphatase activity in the rhizosphere of soil-grown plants. Plant and Soil. 144, 199-205.

Dolédec, S., Chessel, D., 1994. Co-inertia analysis: an alternative method for studying species–environment relationships. Freshwater Biology 31, 277-294.

Doran J.W., Parkin, T.B., 1994. Defining and Assessing Soil Quality. In : Defining Soil Quality for a Sustainable Environment. Soil Science Society of America Journal, Special publication 35, 3-21.

Dray, S., Chessel, D., Thioulouse, J., 2003. Co-inertia analysis and the linking of ecological data tables. Ecology 84, 3078-3089.

Dumontet, S., Dinel, H., Scopa, A., Mazzatura, A., Saracino, 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., Tabatabai, M.A., 1988. Glucosidases and galactosidases in soils. Soil Biology and Biochemistry 20, 601-606.

Ekschmitt, K., Klein, A., Pieper, B., Wolters, V., 2001. Biodiversity and functioning of ecological communities—why is diversity important in some cases and unimportant in others? Journal of Plant Nutrition and Soil Science 164, 239-246.

Emmerling, C., Schloter, M., Hartmann, A., Kandeler, E., 2002. Functional diversity of soil organisms – a review of recent research activities in Germany. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 165, 408-420.

Fernández, I., Cabaneiro, A., Carballas, T., 1997. Organic matter changes immediately after a wildfire in an atlantic forest soil and comparison with laboratory soil heating. Soil Biology and Biochemistry 29, 1-11.

Fernandez, A.S., Hashsham, S.A., Dollhopf, S.L., Raskin, L., Glagoleva, O., Dazzo, F.B, Hickey, R.F., Criddle, C.S., Tidje, J.M., 2000. Flexible community structure correlates with stable community function in methanogenic bioreactor communities perturbed by glucose. Applied and Environmental Microbiology 66, 4058-4067.

Ferran, A., Vallejo, V.,R., (1998). *Long-term plant regeneration after wildfires in Mediterranean ecosystems of NE Spain.* Fire Management and Landscape Ecology (ed. L Trabaud), International Association of Wildland Fire Fairfield, Washington, 155-166.

Fierer, N., Schimel, J.P., 2002. Effects of drying-rewetting frequency on soil carbon and nitrogen transformations. Soil Biology and Biochemistry 34, 777-787.

Fierer, N., Schimel, J.P., Holden, P.A., 2003. Influence of drying-rewetting frequency on soil bacterial community structure. Microbial Ecology. 45, 63-71.

Fioretto, A., Papa, S., Pellegrino, A., 2005. Effects of fire on soil respiration, ATP content and enzyme activities in Mediterranean maquis. Applied Vegetation Science 8, 13-20.

Fioretto, A., Papa, S., Pellegrino, A., Ferrigno, A., 2009. Microbial activities in soils of a Mediterranean ecosystem in different successional stages. Soil Biology and Biochemistry 41, 2061-2068.

Fisher, R.F., Binkley, D., 2000. Ecology and management of forest soils, 3rd edn. Wiley, New York

Flannigan, M.D., Stocks, B.J., Wotton, B.M., 2000. Climate change and forest fires. Science of the total Environment 262, 221-229.

Fog, K., 1988. The effect of added nitrogen on the rate of decomposition of organic matter. Biological Reviews 63, 433-462.

Foley, W.J., McIlwee, A., Lawler, I., Aragones, L., Woolnough, A.W., 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.

Fonturbel, M.T., Vega, J.A., Bara, S., Bernardez, I., 1995. Influence of prescribed burning of pine stands in NW Spain on soil microorganisms. European Journal of Soil Biology 31, 13-20.

Franzluebbers, K., Weaver, R.W., Juo, A.S.R., Franzluebbers, A.J., 1994. Carbon and nitrogen mineralization from cowpea plants part decomposing in moist and in repeatedly drie and wetted soil. Soil Biology and Biochemistry 26, 1379-1387.

García, C., Hernández, T., Costa, F., Ceccanti, B., Masciandaro, G., 1993. The dehydrogenase activity of soil as an ecological marker in processes of perturbed system regeneration. In: Gallardo-Lancho, J. (Ed.), Proceeding of the XI International Symposium of Environmental Biochemistry, Salamanca, Spain, pp. 89-100.

Garcia, C., Hernandez, T., Roldan, A. Martin, A. 2002. Effect of plant cover decline on chemical and microbiological parameters under Mediterranean climate. Soil Biology and Biochemistry 34, 635-642.

Garcıa-Gil, J.C., Plaza, C., Soler-Rovira, P., Pol, A., 2000. Long-term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass. Soil Biology and Biochemistry 32, 1907-1913.

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.

Gelinas, Y., Baldock, J.A., Hedges, J.I., 2001. Demineralization of marine and freshwater sediments 13C NMR analysis for CP/MAS. Organic Geochemistry 32, 677-693.

Gerbaud, G., Ziarelli, F., Caldarelli, S., 2003. Increasing the robustness of heteronuclear decoupling in magic-angle sample spinning solid-state NMR. Chemical Physics Letters 377, 1-5.

Gershenzon, J., 1984. Changes in the levels of plant secondary metabolite production under water and nutrient stress. Recent Advances in Phytochemistry 18, 273-320.

Gerson, U., Chet, I., 1981. Are allochthonous and autochthonous soil micro-organisms r- and K- selected? Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol 18, 285-289.

Gerzabek, M.H., Kirchmann, H., Pichlmayer, F., 1995. Response of soil aggregate stability to manure amendments in the ultuna long-term soil organic matter experiment. Pflanzenerähr.Bodenk, 158, 257-260.

Giai, C., Boerner, R.E.J., 2007. Effects of ecological restoration on microbial activity, microbial functional diversity, and soil organic matter in mixed-oak forests of southern Ohio, USA. Applied Soil Ecology, 35, 281-290.

Gibelin, A.L., Déqué, M., 2003. Anthropogenic climate change over the Mediterranean region simulated by a global variable resolution model. Climate Dynamics 20, 327-339.

GIEC, 2007. Bilan 2007 des changements climatiques. Contribution des Groupes de travail I, II et III au quatrième Rapport d'évaluation du Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat [Équipe de rédaction principale, Pachauri, R.K. et Reisinger, A. (publié sous la direction de~)]. GIEC, Genève, Suisse, 103 pages.

Gill, A.M., 1975. Fire and the Australian Flora. A review. Australian Forestry 38, 4-25.

Giller, K.E., Witter, E. McGrath, S.P. 1998. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. Soil Biology and Biochemistry 30, 1389-1414.

Gillon, D., R. Joffre, P. Dardenne. 1993. Predicting the stage of decay of decomposing leaves by near infrared reflectance spectroscopy. Canadian Journal of Forest Research 23, 2552-2559.

Giovannini, G., Lucchesi, S., Giachetti, M., 1988. Effects of heating on some physical and chemical parameters related to soil aggregation and erodibility. Soil Science 146:255–261.

Giusquiani, P.L., Pagliai, M., Gigliotti, G., Businelli, D., Benetti, A., 1995. Urban waste compost: effects on physical, chemical and biochemical soil properties. Journal of Environmental Quality 24, 175-182.

Gobat, J.-M., Aragno, M., Matthey, W., 2003. Le Sol Vivant. PPUR, Suisse. 571 p.

Gomez, E., Ferreras, L., Toresani, S., 2006. Soil bacterial functional diversity as influenced by organic amendment application. Bioresource Technology 97, 1484-1489.

González-Pérez, J.A., González-Vila, F.J., Almendros, G., Knicker, H., 2004. The effect of fire on soil organic matter—a review. Environment International 30, 855-870.

González-Vila, F.J., González, J.A., Polvillo, O., Almendros, G., Knicker, H., Nature of refractory forms of organic carbon in soils affected by fires. 2002. Pyrolytic and spectroscopic approaches. In: Viegas DX, editor. Forest fire research and wildland fire safety. Rotterdam: Millpress.

Goudsblom, J., 1992. *Fire and Civilization.* London, England; New York, New York: Penguin Books.

Graham, M.H. Haynes, R.J. 2004. Organic matter status and the size, activity and metabolic diversity of the soil microflora as indicators of the success of rehabilitation of mined sand dunes. Biology and Fertility of Soils 39, 429-437.

Green, V.S., Stottand, D.E., Diack M., 2006. Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: Optimization for soil samples. Soil Biology and Biochemistry 38, 693-701.

Grime, J.P., 1979, Plant strategies and vegetation processes. John Wiley and Sons, Chichester.

Grime, J.P., Hodgson, J.G., Hunt, R., 1988. *Comparative Plant Ecology*: a functional approach to common British species. Unwin Hyman Ltd, London, p342-343.

Grime, J.P., 2001. Plant strategies, vegetation processes,and ecosystem properties - John Wiley and Sons Ltd.

Grimm, V., Wissel, Ch., 1997. Babel, or the ecological stability discussions: an inventory of terminology and a guide for avoiding confusion. Oecologia 109, 323-334.

Grogan, P., Bruns, T.D., Chapin III, F.S., 2000. Fire effects on ecosystem nitrogen cycling in a Californian bishop pine forest. Oecologia 122, 537-544.

Gros, R., 2002. Fonctionnement et qualité des sols soumis à des perturbations d'origines anthropiques : réponses du sol, de la flore et de la microflore bactérienne. Thèse ADEME Université de Savoie, 242p.

Gros, R., Monrozier L.J., Bartoli, F., Chotte, J.L., 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 27, 7-22.

Guénon, R., Pailler, A., Dupuy, N., Vennetier, M., Roussos, S., Gros, R., Trends in recovery of Mediterranean soil chemical properties and microbial activities after infrequent and frequent wildfires. Submitted to Land Degradation and Development.

Guerrero, C., Gómez, I., Mataix Solera, J., Moral, R., Mataix Beneyto, J., Hernández, M.T., 2000. Effect of solid waste compost on microbiological and physical properties of a burnt forest soil in field experiments. Biology and Fertility of Soils 32, 410-414.

Guerrero, C., Gómez, I., Moral, R., Mataix-Solera, J., Mataix-Beneyto, J., Hernández, T., 2001. Reclamation of a burned forest soil with municipal waste compost: macronutrient dynamic and improved vegetation cover recovery. Bioresource Technology, 76, 221-227.

Guinto, D.F, Saffigna, P.G., Xu, Z.H., House, A.P.N., Perera, M.C.S., 1999. Soil nitrogen mineralisation and organic matter composition ^{13}C NMR spectroscopy under repeated prescribed revealed by burning in eucalypt forests of south-east Queensland. Australian Journal of Soil Research 37, 123–135.

Haberhauer, G., Rafferty, B., Strebl, F., Gerzabek, M. H., 1998. Comparison of the composition of forest soil litter derived from three different sites at various decompositional stages using FTIR spectroscopy. Geoderma 83, 331-342.

Halverson, L.J., Jones, T.M., Firestone, M.K., 2000. Release of intracellular solutes by four soil bacteria exposed to dilution stress. Soil Science Society of America Journal 64, 1630-1637.

Hamman, S.T., Burke, I.C., Stromberger, M.E., 2007. Relationships between microbial community structure and soil environmental conditions in a recently burned system. Soil Biology and Biochemistry 39, 1703-1711.

Han, K.H., Choi, W.J., Han, G.H., Yun, S.I., Yoo, S.H., Ro, H.M., 2004. Urea-nitrogen transformation and compost-nitrogen mineralization in three different soils as affected by the interaction between both nitrogen inputs. Biology and Fertility of Soils 39, 193-199.

Harris, J.A., van Diggelen, R., 2006. Ecological restoration as a project global society. Pages -15 in J. van Andel, and J. Aronson, editors. Restoration ecology. Blackwell Publishing, Oxford, United Kingdom.

Hart, S.C., Stark, J.M., 1997. Nitrogen limitation of the microbial biomass in an old-growth forest soil. Ecoscience 4, 91-98.

Hart, S.C., Newman, G.S., DeLuca, T.H., MacKenzie, M.D., 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.

Hatten, J.A., Zabowski, D., Ogden, A., Thies, W., 2008. Soil organic matter in a ponderosa pine forest with varying seasons and intervals of prescribed burn. Forest Ecology and Management 255, 2555–2565.

Haw, J.F., Maciel, G.E., 1984. Carbon- 13 Nuclear Magnetic Resonance Spectrometric Study of Wood and Wood Pulping with Cross Polarization and Magic-Angle Spinning. Analytical Chemistry 56, 1323-1329.

Heneghan, L., Miller, S.P., Baer, S., Callaham, M.A. Jr., Montgomery, J., Pavao-Zuckerman, M., Rhoades, C.C., Richardson, S., 2008. Integrating Soil Ecological Knowledge into Restoration Management.Restoration Ecology 16, 608-617.

Hernández, T., Garcia, C., Reinhardt, I., 1997. Short-term effects of wildfire on the chemical, biochemical, and microbiological properties of Mediterranean pine forest soils. Biology and Fertility of Soils 25, 109-116.

Hilscher, A., Heister, K., Siewert, C., Knicker, H., 2009. Mineralisation and structural changes during the initial phase of microbial degradation of pyrogenic plant residues in soil. Organic Geochemistry 40, 332-342.

Hobbie, S.E., 1992. Effects of plant species on nutrient cycling. Trends in Ecology and Evolution 7, 336-339.

Höllermann, P., 1993. Fire ecology in the Canary Islands and Central California - a comparative outline. In: Erd-Kunde 47, 177-184.

Holling, C.S., 1973. Resilience and stability of ecological systems. Annual Review of Ecology and Systematics 4, 1-23.

Hopfensperger, K.N., 2007. A review of similarity between seed bank and standing vegetation across ecosystems. Oikos 116, 1438-1448.

Hopkins, D.W., Chudek., J.A., 1997. Solid-state NMR investigations of organic transformations during the decomposition of plant material in soil. p. 85–94. In G. Cadisch and K.E. Giller (ed.) Driven by nature: Plant litter quality and decomposition. CAB Int., Wallingford, UK.

IUSS Working Group WRB, 2006. World reference base for soil resources 2006. 2nd edition. World Soil Resources Reports No. 103. FAO, Rome.

Janczur, M., Kozłowski, J., Laskowski, R. 2000. Optimal allocation, life history and heavy metal accumulation: A dynamic programming model. In: J. Kammenga & R. Laskowski (eds) Demography in Ecotoxicology. John Wiley and Sons: 180-197.

Joffre, R., Gillon, D., Dardenne, P., Agneessens, R., Biston, R., 1992. The use of near-infrared reflectance spectroscopy in litter decomposition studies. Annales des Sciences Forestières 49, 481-488.

Johnson, D.W., Curtis, P.S., 2001. Effects of forest management on soil C and N storage: meta-analysis. Forest Ecology and Management 140, 227-238.

Johnston, C.T., Aochi, Y.O., 1996. Fourier transform infrared and Raman spectroscopy. p. 269-321. In D.L. Sparks (ed.) Methods of soil analysis. Part 3. SSSA Book Ser. 5. SSSA, Madison, WI.

JRC, 2010. Forest Fires in Europe 2009. Schmuck, G., San-Miguel-Ayanz, J., Camia, A., Durrant, T., Santos de Oliveira, S., Boca, R., Whitmore, C., Giovando, C., Libertà, G., Schulte, E.,. Luxembourg : Publications Office of the European Union, 83 pp. doi:10.2788/74089.

Kaiser, M., Ellerbrock, R.H., 2005. Functional characterization of soil organic matter fractions different in solubility originating from a long-term field experiment. Geoderma 127, 196-206.

Kaye, J.P., Hart, S.C., 1997. Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms. Trends in Ecology and Evolution 12, 139-143.

Keeley, J.E., 1986. Resilience of Mediterranean shrub communities to fire, Resilience in Mediterranean-type ecosystems: Dordrecht, The Netherlands, Dr W. Junk, p. 95-112.

Keeley, J.E., Fotheringham, C.J., 2000. Role of fire in regeneration from seed. In: Fenner M. (ed.). *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. Commonwealth Agricultural Bureau International, Oxon, pp. 311–330.

Keeney, D.R., Nelson. D.W., 1982. Nitrogen - Inorganic forms. In: Methods of Soil Analysis (A.L. Page *et al.*, ed.) Agronomy Monograph 9, Part 2, 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin. pp. 643-698.

Keller, M., Palace, M. Asner, G.P., Pereira, R. Jr, Silva, J.N.M., 2004 Coarse woody debris in undisturbed and logged forests in the eastern Brazilian Amazon. Global Change Biology 10, 784-795.

Kizilkaya, R., Bayrakli, B., 2005. Effects of N-enriched sewage sludge on soil enzyme activities. Applied Soil Ecology 30, 192-202.

Khanna, P.K., Raison, R.J., 1986. Effects of fire intensity on solution chemistry of surface soil under a Eucalyptus pauciflora forest. Australian Journal of Soil Research 24, 423-34.

Khanna, P.K., Raison, R.J., Falkiner, R.A., 1994. Chemical properties of ash derived from Eucalyptus litter and its effects on forest soils. Forest Ecology and Management 66, 107–125.

Klopatek, C.C., DeBano, L.F., Klopatek, J.M., 1988. Effects of simulated fire on vesicular–arbuscular mycorrhizae in pinyon–juniper woodland soil. Plant and Soil 109, 245-249.

Knell, R.J., 2009. On the analysis of non-linear allometries. Ecological Entomology 34, 1–11.

Knicker, H., 2004. Stabilization of N-compounds in soil and organic matter-rich sediments – what is the difference? Marine Chemistry 92, 167–195.

Knicker, H., González-Vila, F.J., Polvillo, O., Jose A. Gonzàlez, J.A., Almendros, G., 2005. 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 Biology and Biochemistry 37, 701-718.

Knicker, H., Almendros, G., González-Vila, F.J., Gonzàlez-Pérez, J.A., Polvillo, O., 2006. Characteristic alterations of quantity and quality of soil organic matter caused by forest fires in continental Mediterranean ecosystems: a solid state ^{13}C NMR study. European Journal of Soil Science 57, 558–569.

Knicker, H., 2007. How does fire affect the nature and stability of soil organic nitrogen and carbon? A review. Biogeochemistry 85, 91–118.

Kögel-Knabner, I., 1997. ^{13}C and ^{15}N NMR spectroscopy as a tool in soil organic matter studies. Geoderma 80, 243-270.

Kögel-Knabner, I., 2002. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. Soil Biology and Biochemistry 34, 139–162.

Kowaljow, E., Mazzarino, M.J., 2007. Soil restoration in semiarid Patagonia: Chemical and biological response to different compost quality. Soil Biology and Biochemistry 39, 1580-1588.

Krave, A.S., Straalen, N.M., Verseveld, H.W., 2002. Potential nitrification and factors influencing nitrification in pine forest and agricultural soils in Central Java, Indonesia. Pedobiologia, 46, 573-594.

Kutiel, P., Shaviv, A., 1992. Effects of soil type, plant composition and leaching on soil nutrients following a simulated forest fire. Forest Ecology and Management 53, 329-343.

Lahmar, R., Ruellan, A., 2007. Dégradation des sols et stratégies coopératives en Méditerranée : la pression sur les ressources naturelles et les stratégies de développement durable. Cahiers Agricultures 16, n° 4, 318-323.

Larchevêque, M., Baldy, V., Korboulewsky, N., Ormeño, E., Fernandez, C., 2005. Compost effect on bacterial and fungal colonization of kermes oak leaf litter in a terrestrial Mediterranean ecosystem. Applied Soil Ecology 30, 79-89.

Le Floc'h, E., Aronson, J., 1995. Ecologie de la restauration. Définition de quelques concepts de base. Nature Sciences Sociétés 3, 29-35.

Legendre, P., Anderson, M.J., 1999. Distance-based redundancy analysis: Testing multispecies responses in multifactorial ecological experiments. Ecological Monograph 69, 1-24.

Le Houérou, H.N., 1973. *Fire and vegetation in the Mediterranean basin*. Proceedings Annual Tall Timbers, Fire Ecology Conference.

Lepart, J., et Escarré, J., (1983). *La succession végétale, mécanismes et modèles: analyse bibliographique*. Bulletin d'Ecologie 14, 133-178.

Leytem, A.B., Turner, B.L., Raboy, V., Peterson, K.L., 2005. Linking manure properties to phosphorus solubility in calcareous soils: importance of the manure carbon to phosphorus ratio. Soil Science Society of America Journal 69. 1516-1524.

Lima, J.A., Nahas, E., Gomes, A.C., 1996. Microbial populations and activities in sewage sludge and phosphate fertiliser amended soil. Applied Soil Ecology 4, 75-82.

Liu, M., Hu, F., Chen, X.,, Huang, Q., Jiao, J., Zhang, B.,, Li, H., 2009. Organic amendments with reduced chemical fertilizer promote soil microbial development and nutrient availability in a subtropical paddy field: The influence of quantity, type and application time of organic amendments. Applied Soil Ecology 42, 166-175.

Lloret, F., 1998. Fire, canopy cover and seedling dynamics in Mediterranean shrublands of Northeastern Spain. Journal of Vegetation Science 9, 417-430.

Loreau, M., 2000. Biodiversity and ecosystem functioning: Recent theoretical advances. Oikos 91, 3-17.

Lützow, M.v., Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Matzner, E., Guggenberger, G., Marschner, B., Flessa, H., 2006. Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions - a review. European Journal of Soil Science 57, 426–445.

Magid, J., Kjærgaard, C., Gorissen, A., Kuikman, P.J., 1999. Drying and rewetting of a loamy sand soil did not increase the turnover of native 14 C-labelled organic matter, but retarded the decomposition of added plant material. Soil Biology and Biochemistry 31, 595-602.

Marion, G.M., Moreno, J.M., Oechel, W.C., 1991. Severity, ash deposition, and clipping effects on soil nutrients in Chaparral. Soil Science Society of America Journal 55, 235-240.

Margaris, N.S., Vokou, D., 1982. Structural and physiological features of woody plants in phryganic ecosystems related to adaptive mechanisms. Ecology Mediterranean 8, 449-459.

Martins, C.M.C., Mesquita, S.M.M., Vaz, W.L.C., 1999. Cuticular waxes of the holm (Quercus ilex l. subsp. ballota (desf.) samp.) and cork (Q. suber l.) oaks. Phytochemical Analysis 10, 1–5.

Massiot, D., Fayon, F., Capron, M., King, I., Le Calvé, S., Alonso, B., Durand, J-O., Bujoli, B., Gan, Z., Hoatson, G., 2002. "Modelling one- and two-dimensional Solid State NMR spectra." Magnetic Resonance Chemistry 40, 70–76.

Mataix-Solera, J., Doerr, S.H., 2004. Hydrophobicity and aggregate stability in calcareous topsoils from fire-affected pine forests in southeastern Spain. Geoderma 118, 77-88.

Mathers, N.J., Mendham, D.S., O'Connell, A.M., Grove, T.S., Xu, Z., Saffigna, P.G., 2003. How does residue management impact soil organic matter composition and quality under Eucalyptus globules plantations in southwestern Australia? Forest Ecology and Management 179, 253–267.

Mausbach, M.J., Tugel, A., 1997. Soil quality: A multitude of approaches. *Kearney Foundation Symposium*, California Soil Quality: From critical research to sustainable management, Berkeley, California, March 25, 13p.

McIntyre, S., Lavorel, S., 2001. Livestock grazing in subtropical pastures: steps in the analysis of attribute response and plant functional traits. Journal of Ecology 89, 209-226.

Meehl, G.A., Tebaldi C., 2004. More intense, more frequent and longer lasting heat waves in the 21st century, Science 305, 994-997.

Merrill, D.F., Alexander, M.E., editors. 1987. Glossary of forest fire management terms. 4th ed. National Research Council of Canada, Canadian Committee on Forest Fire Management, Ottawa. Publication NRCC No. 26516. 91p.

Meyer, V.F., Redente, E.F., Barbarick, K.A., Brobst, R.B., Paschke, M.W., Miller, A.L., 2004. Plant and soil responses to biosolids application following forest fire. Journal of Environmental Quality 33, 873-881.

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.

Mijangos, I., Pérez, R., Albizu, I., Garbisu, C., 2006. Effects of fertilization and tillage on soil biological parameters. Enzyme and Microbial Technology 40, 100-106.

Moreno, J.M., Oechel W.C., 1994. Fire intensity as a determinant factor of postfire plant recovery in southern California chaparral. 26–45. *in* Moreno, J. M. and W. C. Oechel, editors. The role of fire in Mediterranean-type ecosystems Springer-Verlag. New York, NY.

Moore, J.C., de Ruiter, P.C., Hunt, H.W., 1993. Influence of productivity on the stability of real and model ecosystems. Science 261, 906-908.

Mulvaney, R.L., 1996. Nitrogen – Inorganic Forms. In : Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke P.A., Loeppert, R.H., Soltanpoor, P.N., Tabatabai, M.A., Johnston, C.T., Sumner, M.E., Methods of soil analysis. Part 3. Chemical Methods–SSSA Book series no. 5. Wisconsin, USA. pp. 1123-1184.

Murphy, J., Riley. J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Analytical Chimica Acta. 27, 31-36.

Naeem, S., Thompson, L.J., Lawler, S.P., Lawton, J.H., Woodfin, R.M., 1994. Declining biodiversity can alter the performance of ecosystems. Nature 368, 734-737.

Naeem, S., Li, S.B., 1997. Biodiversity enhances ecosystem reliability. Nature 390, 507-509.

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.

Nakas, J.P., Gould, W.D., Klein, D.A., 1987. Origin and expression of phosphatase activity in a semi-arid grassland soil. Soil Biology and Biochemistry. 19, 13-18.

Naveh, Z., 1975. The evolutionary significance of Fire in the Mediterranean Region. *Vegetatio* 29, 199-208.

Nardi, S., Tosoni, M., Pizzeghello, D., Provenzano, M.R., Cilenti, A., Sturaro, A., Rella, R., Vianello, A., 2005. Chemical characteristics and biological activity of organic substances extracted from soils exudates. Soil Science Society of America Journal 69, 2012-2019.

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.

Nelson, N., 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. Journal of Biological Chemistry 153, 375-380.

NF EN 13039 - Amendements du sol et supports de culture. - Détermination de la matière organique et des cendres.

NF EN 13654-2 - Amendements du sol et supports de culture - Détermination de l'azote - Partie 2 : méthode Dumas.

NF EN 13650 - Amendements du sol et supports de culture - Extraction des éléments solubles dans l'eau régale.

NF ISO 10694 - Qualité du sol - Dosage du carbone organique et du carbone total après combustion sèche.

NF ISO 13878 - Qualité du sol - Dosage de la teneur en azote total par combustion sèche.

NF U 44-095 - Amendements organiques: Composts contenant des matières d'intérêt agronomique, issues du traitement des eaux. AFNOR, 2004.

NF X 31-160, 1993. Soil quality. Determination of soil phosphorus in a monohyfrated citric acid solution at 20 G.L-1- Dyer method. Association Française de Normalisation, AFNOR, Paris.

NF U 44-160 - Amendements organiques et supports de culture - Détermination de la matière organique totale - Méthode par calcination. AFNOR, 1985

NF U 44-095 - Amendements organiques: Composts contenant des matières d'intérêt agronomique issues du traitement des eaux. AFNOR, JO du 26/03/2004.

Nguyen, B.T., Marschner, P., 2005. Effect of drying and rewetting on phosphorus transformations in red brown soils with different soil organic matter content. Soil Biology and Biochemistry 37, 1573-1576.

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., Yu, Z., Dahlgren, R.A., Vogt, K.A., 1995. Polyphenol control of nitrogen release from pine litter. Nature 377, 227-229.

Odum, H.T., 1962. Man in the ecosystem. Proceedings Lockwood conference on the suburban forest and ecology. Bulletin of the Connecticut Agricultural Station 652, 57-75.

Odum, E.P., 1981. The effects of stress on the trajectory of ecological succession. Stress effects on natural ecosystems. G.W., Barrett and R., Rosenberg. Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, John Wiley & Sons Ltd.: 43-47.

Ojima, D.S., Schimel, D.S., Parton, W.J., Owensby, C.E., 1994. Long- and short-term effects of fire on nitrogen cycling in tallgrass prairie. Biogeochemistry 24, 67-84.

Olsen, S.R., Sommers, L.E., 1982. Phosphorus. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R., (eds) Methods of soil analysis, part 2. Chemical and microbiological properties-Agronomy monograph, 2nd edn. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, pp 403-430.

O'Neill, R.V., De Angelis, D.L., Waide, J.B., Allen., T.F.H., 1986. A hierarchical concept of ecosystems. Princeton University Press.

Oosterbaan, R.J., 1994. Frequency and regression analysis. Drainage Principles and Applications (ed. by H.P. Ritzema), pp. 175–224. ILRI, Wageningen, The Netherlands.

Orwin KH, Wardle DA, 2005. Plant species composition effects on belowground properties and the resistance and resilience of the soil microflora to a drying disturbance. Plant and Soil 278, 205-221.

Orwin, K.H., Wardle, D.A., Greenfield, L.G., 2006. Ecological consequences of carbon substrate identity and diversity in a laboratory study. Ecology 87, 580–593.

Overby, S.T., Hart, S.C., Newman, G.S., Erikson, D., 2006. Microbial response to high severity wildfire in the southwest United States. Forest Ecology S234, 198.

Øvreås, L., 2000. Population and community level approaches for analysing microbial diversity in natural environments. Ecology Letters 3, 236-251.

Paré, T., Dinel, H., Moulin, P.A., Townley-Smith, L., 1999. Organic matter quality and structural stability of a Black Chernozemic soil under different manure and tillage practices. Geoderma, 91, 311-326.

Pascual, J.A., Garciá, C., Hernández, T., Ayuso, M., 1997. Changes in soil microbial activity on a arid soil amended with urban organic wastes. Biology and Fertility of Soils 24, 429-434.

Patra, A.K., Abbadie, L., Clays, A., Degrange, V., Grayston, S., Loiseau, P., Louault, F., Mahmood, S., Nazaret, S., Philippot, L., Poly, F., Prosser, J.I., Richaume, A., Le Roux, X., 2005. Effect of grazing on microbial functional groups involved in soil N dynamics, Ecological Monographs 75 65-80.

Patra, A.K., Abbadie, L., Clays, A., Degrange, V., Grayston, S., Guillaumaud, N., Loiseau, P., Louault, F., Mahmood, S., Nazaret, S., Philippot, L., Poly, F., Prosser, J.I., Le Roux, X. 2006. Effects of management regime and plant species on the enzyme activity and genetic structure of N-fixing, denitrifying and nitrifying bacterial communities in grassland soils, Environmental Microbiology 8, 1005-1016.

Paul, E.A., Clark, F.E., 1989. Soil microbiology and biochemistry. Academic press, Inc., New York.

Pausas, J.G., 2004. Changes in fire and climate in the eastern Iberian Peninsula (Mediterranean Basin). Climatic Change 63, 337-350.

Pausas, J.G., Ribeiro, E., Vallejo, R., 2004. Post-fire regeneration variability of Pinus halepensis in the eastern Iberian Peninsula. Forest Ecology and Management 203, 251-259.

Pausas, J.G., Bradstock, R.A., 2007. Fire persistence traits of plants along a productivity and disturbance gradient in mediterranean shrublands of south-east Australia. Global Ecology and Biogeography 16, 330-340.

Peacock, A.D., Mullen, M.D., Ringelberg, D.B., Tyler, D.D., Hedrick, D.B., Gale, P.M., White, D.C., 2001. Soil microbial community response to dairy manure or ammonium nitrate applications. Soil Biology and Biochemistry 33, 1011-1019.

Peersen, O.B., Wu, X., Kustanovich, I., Smith, S.O., 1993. Variable-amplitude cross polarization MAS NMR. Journal of Magnetic Resonance 104, 334-339.

Perry, G.L.W., Millington J.D.A., 2008. Spatial modelling of succession-disturbance dynamics in forest ecosystems: Concepts and examples. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics 9, 191-210.

Pickett, S.T.A., White, P.S., 1985. Natural disturbance and patch dynamics: An introduction. In: The ecology of natural disturbance and patch dynamics (eds S.T.A. Pickett & P.S. White). Academic Press, New York.

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.

Pietikäinen, J., 1999. Soil microbes in boreal forest humus after fire. Ph.D. dissertation, University of Helsinki, 53p.

Pietikäinen, J., Hiukka, R., Fritze, H., 2000. Does short-term heating of forest humus change its properties as a substrate for microbes? Soil Biology and Biochemistry 32, 277–288.

Pimm, S. L. 1984. The complexity and stability of ecosystems. Nature 307, 322-326.

Plan Bleu, 2003. Les menaces sur les sols dans les pays méditerranéens. Etude bibliographique. 80 p. ISBN : 2-912081-13-0

Ponomarenko, E.V., Anderson, D.W., 2001. Importance of charred organic matter in Black Chernozem soils of Saskatchewan. Canadian Journal of Soil Science 81, 285-297.

Pons, A., Thinon M., 1987. The role of fire from palaeoecological data. Ecologia Mediterranea 13, 1-11.

Prieto-Fernández, A., Acea, M.J., Carballas, T., 1998. Soil microbial and extractable C and N after wildfire. Biology and Fertility of Soils 27, 132-142.

Preston, C.M., Trofymow, J.A., Sayer, B.G., Niu, J., 1997. ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy with cross polarization and magic angle spinning investigation of the proximate-analysis fractions used to assess litter quality in decomposition studies. Can. J. Bot. 75, 1601–1613.

Preston-Mafham, J., Boddy, L., Randerson, P.F., 2002. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles – a critique. FEMS Microbiology Ecology 42, 1-14.

Qiu, S., McComb, A.J., Bell, R.W., 2008. Ratios of C, N and P in soil water direct microbial immobilisation-mineralisation and N availability in nutrient amended sandy soils in southwestern Australia. Agriculture Ecosystems and Environment 127, 93-99.

R Development Core Team, 2007. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Radford, J.Q., Bennett, A.F., Cheers, G.J., 2005. Landscape-level thresholds of habitat cover for woodland-dependent birds. Biological Conservation 124, 317–337.

Reich, P.B., Peterson, D.W., Wedin, D.A., Wrage, K., 2001. Fire and vegetation effects on productivity and nitrogen cycling across a forest-grassland continuum. Ecology, 82, 1703-1719.

Robert, M., Chenu, C., 1992. Interactions between soil minerals and microorganisms. In Soil Biochemistry. Ed Dekker, Inc, 7, 307-393.

Robichaud, P.R., 2000. Fire effects on infiltration rates after prescribed fire in Northern Rocky Mountain forests, USA. Journal of Hydrology 231/232, 220-229.

Roger, J.M., 2005. *Développements chimiométriques pour améliorer la robustesse des mesures spectrométriques appliquées aux agro-procédés.* Habilitation à Diriger des Recherches, section Mathématiques Appliquées et Application des Mathématiques, Université de Montpellier II. 60 p.

Ros, M., Hernandez, M.T., García, C., 2003. Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments Soil Biology and Biochemistry, 35, 463-469.

Ros, M., Pascual, J.A., Garcia, C., Hernandez, M.T., Insam, H., 2006. Hydrolase activities, microbial biomass and bacterial community in a soil after long-term amendment with different composts. Soil Biology and Biochemistry 38, 3443-3452.

Rumpel, C., Rabia, N., Derenne, S., Quenea, K., Eusterhues, K., Kögel-Knabner, I., Mariotti, A., 2006a. Alteration of soil organic matter following treatment with hydrofluoric acid (HF). Organic Geochemistry 37, 1437-1451.

Rumpel, C., Chaplot, V., Planchon, O., Bernadou, J., Valentin, C., Mariotti, A., 2006b. Preferential erosion of black carbon on steep slopes with slash and burn agriculture. Catena 65, 30–40.

Rumpel, C., Ba, A., Darboux, F., Chaplot, V., Planchon, O., 2009. Erosion budget and process selectivity of black carbon at meter scale. Geoderma 154, 131-137.

Rutigliano, F. A., D'Ascoli, R., Virzo De Santo, A., 2004. Soil microbial metabolism and nutrient status in a Mediterranean area as affected by plant cover. Soil Biology and Biochemistry 36, 1719-1729.

Saetre, P., 1998. Decomposition, microbial community structure and earthworm effects along a birch spruce soil gradient. Ecology 79, 834-846.

Saison, C., Degrange, V., Oliver, R., Millard P., Commeaux, C., Montange D., Le Roux, X., 2006. Alteration and resilience of the soil microbial community following compost amendment: effects of compost level and compost-borne microbial community. Environmental Microbiology, 247-257.

Saiya-Cork, K.R., Sinsabaugh, R.L., 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.

Sánchez-Monedero, M.A., Mondini, C., de Nobili, M., Leita, L., Roig, A., 2004. Land application of biosolids. Soil response to different stabilization degree of the treated organic matter. Waste Management 24, 325-332.

Santín, C., Knicker, H., Fernández, S., Menéndez-Duarte, R., Álvarez, M.Á., 2008. Wildfires influence on soil organic matter in an Atlantic mountainous region (NW of Spain). Catena 74, 286–295.

Sardans, J., Peñuelas J., 2007. Drought changes phosphorus and potassium accumulation patterns in an evergreen Mediterranean forest. Functional Ecology 21, 191-201.

Sardans, J., Peñuelas J., Ogaya R., 2008. Drought's impact on Ca, Fe, Mg, Mo and S concentration and accumulation patterns in the plants and soil of a Mediterranean evergreen *Quercus ilex* forest. Biogeochemistry 87, 49-69.

Sastre, L., Vicente, M.A., Lobo, M.C., 1996. Influence of the application of sewage sludges on soil microbial activity. Bioresource Technology 57, 19-23.

Saura-Mas, S., Lloret, F., 2009. Linking post-fire regenerative strategy and leaf nutrient content in Mediterranean woody plants. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics 11, 219-229.

Schaefer, J., Stejskal, E.O.R., 1976. Carbon-13 nuclear magnetic resonance of polymers spinning at magic angle. Journal of the American Chemical Society 98, 1031–1032.

Schaffhauser A. 2009. Impacts de la récurrence des incendies sur la végétation, son inflammabilité et sa combustibilité en forêts de chênes-liège et maquis (Massif des Maures, Var, France). Thèse Université Paul Cézanne (Marseille 3) - Cemagref Aix-en-Provence, 283 p.

Sharpley, A., Moyer, B., 2000. Phosphorus forms in manure and compost and their release during simulated rainfall. Journal of Environmental Quality 29, 1462-1469.

Scheffer, M., Carpenter, S., 2003. Catastrophic regime shifts in ecosystems: linking theory to observation. Trends in Ecology and Evolution 18, 648–656.

Schimann, H, Joffre, R., Roggy, J-C., Lensi, R., Domenach, A-M., 2007. Evaluation of the recovery of microbial functions during soil restoration using near-infrared spectroscopy. Applied Soil Ecology 37, 223–232.

Schimel, J.P., Firestone, M.K., Killham, K.S., 1984. Identification of heterotrophic nitrification in a Sierran forest soil. Applied and Environmental Microbiology 48, 802-806.

Schimel, J.P., Van Cleve, K., Cates, R.G., Clausen, T.P., Reichardt, P.B., 1996. Effects of balsam poplar (Populus basamifera) tannins and low molecular weight phenolics on microbial activity in taiga floodplain soil: Implications for changes in N cycling during succession. Canadian journal of Botany 74, 84-90.

Schimel, J.P., Gulledge, J.M., Clein-Curley, J.S., Lindstrom, J.E., Braddock, J.F., 1999. Moisure effects on microbial activity and community structure in decomposing birch litter in the Alaskan taiga. Soil Biology and Biochemistry 31, 831-838.

Schimel, J.P., Balser, T.C., Wallenstein, M., 2007. Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. Ecology 88, 1386-1394.

Schipper, L.A., Degens, B.P., Sparling, G.P., Duncan, L., C. 2001. Changes in microbial heterotrophic diversity along five plant successional sequences. Soil Biology and Biochemistry 33, 2093–2103.

Schröter, D., *et al.* 2005. Ecosystem Service Supply and Vulnerability to Global Change in Europe. Science 25, 1333-1337.

Scott, A.C., Glasspool, I.J., 2006. The diversification of Paleozoic fire systems and fluctuations in atmospheric oxygen concentrations. Proceedings of the National Academy of Sciences 103, 10861-10865.

SER, 2004. Society for Ecological Restoration International Science & Policy Working Group. 2004. The SER International Primer on Ecological Restoration. ww.ser.org & Tucson : Society for Ecological Restoration International.

Serra-Wittling, C., 1995. Valorisation de compost d'ordures ménagères en protection des cultures : Influence de l'apport de composts sur le développement de maladies d'origine tellurique et le comportement de pesticides dans un sol. Thèse de doctorat de l'INAPG, 221p.

Shepherd, K.D., Walsh, M.G., 2007. Infrared spectroscopy−enabling an evidence-based diagnostic surveillance approach to agricultural and environmental management in developing countries. J. NIRS 15, 1–19.

Simpson, E.H., 1949. Measurement of diversity. Nature 163, 688.

Sinsabaugh, R.L., Antibus, R.K., Linkens, A.E., McClaugherty, C.A., Rayburn, L., Repert., D., Weiland, T., 1993. Wood decomposition: nitrogen and phosphorus dynamics in relation to extracellular enzyme activity. Ecology 74, 1586–1593.

Sinsabaugh, R.L., Carreiro, M.M., Repert, D.A., 2002. Allocation of extracellular enzymatic activity in relation to litter composition, N deposition, and mass loss. Biogeochemistry 60, 1-24.

Sinsabaugh, R.L., Gallo, M.E., Lauber, C., Waldrop, M.P., ZAK D.R., 2005. Extracellular enzyme activities and soil organic matter dynamics for northern hardwood forests receiving simulated nitrogen deposition. Biogeochemistry 75, 201-215.

Sinsabaugh, R.L., 2010. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. Soil Biology and Biochemistry 42, 391-404.

Skjemstad, J.O., Taylor, J.A., Smernik, R.J., 1999. Estimation of charcoal (char) in soils. Communications in Soil Science and Plant Analysis 30, 2283–2298.

Skouri, M., 1994. Les dégradations du milieu et les mesures de protection-Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France, 80, n°9, 49-82.

Schaffhauser, A., Curt, T., Tatoni, T., 2008. The resilience ability of vegetation after different fire recurrences in Provence. Modelling, Monitoring and Management of Forest Fires I, 297. doi:10.2495/FIVA080301

Schmidt, M.W.I., Skjemstad, J.O., Ghert, E., Kögel-Knabner, I., 1999. Charred organic carbon in German chernozemic soils. European Journal of Soil Science 50, 351-65.

Smith, B.C., 1999. Infrared spectral interpretation: a systematic approach. CRC Press, 1999. 265p.

Smithers, J., B. Smit, 1997, Human adaptation to climate variability and change. Global Environmental Change, 7, 128-148.

Somogyi, M., 1945. A new reagent for the determination of sugars. Journal of Biological Chemistry 160, 61-68.

Sparrow, E.B., Cochran, V.L., Sparrow, S.D., 1990. Phosphorus mineralization in subarctic agricultural and forest soils. Biology and Fertility of Soils 10, 107-112.

Ste-Marie, C., Paré, D., 1999. Soil, pH and N availability effects on net nitrification in the forest floors of a range of boreal forest stands. Soil Biology and Biochemistry 31, 1579-1589.

Steenwerth, K.L., Jackson, L.E., Calderón, F.J., Scow, K.M., Rolston, D.E., 2005. Response of microbial community composition and activity in agricultural and grassland soils after a simulated rainfall. Soil Biology and Biochemistry 37, 2249-2262.

Steinberg, C., Edel-Hermann, V., Guillemaut, C., Pérez-piqueres, A., Singh, P., Alabouvette, C., 2004. Impact of organic amendments on soil suppressiveness to diseases. In : Sikora, R.A., Gowen, S., Hauschild, R., Kiewnick, S. (Eds.), Multitrophic Interactions in Soil and Integrated Control IOBC wprs Bulletin, 27, 259-266.

Suzina, N.E., Mulyukin, A.L., Kozlova, A.N., Shorokhova, A.P., Dmitriev, V.V., Barinova, E.S., Mokhova, O.N., El'-Registan, G.I., Duda, V.I., 2004. Ultrastructure of resting cells of some non-spore-forming bacteria. Microbiology 73, 435-447.

Tabatabai, M.A., Bremner, J.M., 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. Soil Biology and Biochemistry 1, 301-307.

Tabatabai, M.A., Bremner, J.M., 1972. Assay of urease activity in soil. Soil Biology and Biochemistry 4, 479-487.

Tabatabai, M.A., 1994. Soil enzymes. In: Weaver, R.W., Angel, J.S., Bottomley, P.S. (Eds.), Methods of Soil Analysis. Part 2: Microbiological and Biochemical Properties, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, pp. 775–833.

Tapias, R., Climent, J., Pardos, J.A., Gil, L. 2004. Life histories of Mediterranean pines. Plant Ecology 171, 53-68.

Tatoni, T., 1992. Evolution post-culturale des agrosystèmes de terrasses en Provence calcaire. Phytoécologie et impact humain. Thèse doctorale, Université de Provence – Aix – Marseille I, France : 191p.

Tessier, D., Bruand, A., Le Bissonnais, Y., Dambrine, E., 1996. Qualité chimique et physique des sols: variabilité spatiale et évolution. Etude et Gestion des Sols numéro spécial 3/4, 229-244.

ter Braak, C.J.F., Smilauer, P., 2002. CANOCO Reference Manual and CanoDraw for Windows User's Guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5). Ithaca, NY, USA: Microcomputer Power. 500.

Tenenhaus, M., 1998. La régression PLS. Théorie et pratique, Editions Technip, Paris.

Thomas, A.D., Walsh, R.P.D., Shakesby, R.A., 1999. Nutrient losses in eroded sediment after fire in eucalyptus and pine forests in the wet Mediterranean environment of northern Portugal. Catena 36, 283-302.

Tilman, D., Downing, J.A., 1994. Biodiversity and stability in grasslands. Nature 367, 363-365.

Tilman, D., 1996. Biodiversity: population *versus* ecosystem stability. Ecology 77, 350-363.

Tilman, D., Lehman, C.L., Thomson, K.T. 1997. Plant diversity and ecosystem productivity: theoretical consideration. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 94, 1857-1861.

Tinoco, P., Almendros, G., Sanz, J., Gonzalez-Vazquez, R., González-Vila, F.J., 2006. Molecular descriptors of the effect of fire on soils under pine forest in two continental Mediterranean soils. Organic Geochemistry 37, 1995-2018.

Torres, P., Honrubia, M., 1997. Changes and effects of a natural fire on ectomycorrhizal inoculum potential of soil in a Pinus halepensis forest. Forest Ecology and Management 96, 189-196.

Trabaud, L., Lepart, J., 1980. Diversity and stability in garrigue ecosystems after fire. Vegetatio 43, 49-58.

Trabaud, L., Lepart, J., 1981. Floristic changes in a Quercus coccifera L. garrigue according to different fire regimes. Vegetatio 46, 105-116.

Trabaud, L., 1994. Post-fire plant community dynamics in the Mediterranean Basin. In: The role of fire in Mediterranean-type ecosystems (Moreno J.M. & Oechel W.C., eds.), Ecological Studies, pp.1-15. Springer.

Trabaud, L., 1995. Modalités de germination des cistes et des pins méditerranéens et colonisation des sites perturbés. Revue Ecologie (Terre Vie) 50, 3-14.

Turner, B.L., Haygarth, P.M., 2001. Biogeochemistry-phosphorus solubilization in rewetted soils. Nature 411, 258-258.

USDA, 1996. Indicators for soil quality evaluation. USDA Natural Resources Concervation Service, April 1996. www.nssc.nrcs.usda.gov

Vance, E.D, Chapin, F.S., 2001. Substrate limitations to microbial activity in taiga forest floors. Soil Biology and Biochemistry 33, 173-188.

Van Gestel, M., Merckx, R., Vlassak, K., 1993. Microbial biomass responses to soil drying and rewetting: the fate of fast- and slow- growing microorganisms in soils from different climates. Soil Biology and Biochemistry 25, 109-123.

Van Soest, P.J., Wine, R.H., 1963. Use of detergent in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fibre and lignin. Journal - Association of Official Analytical Chemists 46, 829-835.

Vennetier, M. *et al.*, 2008. Etude de l'impact d'incendies de forêt répétés sur la biodiversité et sur les sols. Recherche d'indicateurs. Rapport Final IRISE (Impact de la Répétition des Incendies Sur l'Environnement). Projet Forest Focus Convention N° FF 2005-9.

Vergnoux, A., Dupuy, N., Guiliano, M., Vennetier, M., Théraulaz, F., Doumenq, P., 2009. Fire impact on forest soils evaluated using near-infrared spectroscopy and multivariate calibration. Talanta 80, 39-47.

Vilà, M., Sardans, J., 1999. Plant competition in mediterranean-type vegetation. Journal of Vegetable Science 10, 281–294.

Wada, S., Toyota, K., 2007. Repeated applications of farmyard manure enhance resistance and resilience of soil biological functions against soil disinfection. Biology and Fertility of Soils 43, 349-356.

Waldrop, M.P., Firestone, M.K., 2006. Seasonal dynamics of microbial community composition and function in oak canopy and open grassland soils. Microb. Ecol. 52, 470–479.

Wan, S.Q., Hui, D.F., Luo, Y.Q., 2001. Fire effects on nitrogen pools and dynamics in terrestrial ecosystems: A meta-analysis. Ecological Applications 11, 1349-1365.

Ward, D.M., Weller, R., Bateson, M.M., 1990. 16S ribosomal RNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. Nature 345, 63-65.

Wardle, D.A., 1998. Controls of temporal variability of the soil microbial biomass - a global-scale synthesis. Soil Biology and Biochemistry 30, 1627-1637.

Wardle, D.A., 2002. *Communities and Ecosystems: Linking the Aboveground and Belowground Components*. Princeton University Press, Princeton, NJ, USA.

Webster, E.A., Hopkins, D.W., Chudek, J.A., Haslam, S.F.I., Simek, M., Picek, T., 2001. The relationship between microbial carbon and the resource quality of soil carbon. Journal of Environmental Quality 30, 147–150.

Weigand, S., Auerswald, K., Beck, T. 1995. Microbial biomass in agricultural top soils after 6 years of bare fallow. Biology and Fertility of Soils 19, 129-134.

Wertz, S., Degrange, V., Prosser, J.I., Poly, F., Commeaux, C., Freitag, T., Guillaumaud N., Le Roux, X., 2006. Maintenance of soil functioning following erosion of microbial diversity. Environmental Microbiology 8, 2162-2169.

Weston, C.J., Attiwill, P.M., 1996. Clearfelling and burning effects on nitrogen mineralization and leaching in soils of old-age Eucalyptus regnans forests. Forest Ecology and Management 89, 13-24.

White, C.S., 1994. Monoterpenes - Their effects on ecosystem nutrient cycling. Journal of Chemical Ecology 20, 1381-1406.

Wilson, M.A., Heng, S., Goh, K.H., Pugmire, R.J., Grant, D.M., 1983. Studies of litter and acid insoluble soil organic matter fractions using 13C-cross polarization nuclear magnetic resonance spectroscopy with magic angle spinning. Journal of Soil Science 34, 83–97.

Wondzell, S. M., and King, J. G., 2003. Post-fire erosional processes in the Pacific Northwest and Rocky Mountain region. Forest Ecology and Management 178:75-87.

Wu, J., Brookes, P.C., 2005. The proportional mineralisation of microbial biomass and organic matter caused by air-drying and rewetting of a grassland soil. Soil Biology and Biochemistry 37, 507-515.

Yaalon, D.H., 1997. Soils in the Mediterranean region : what makes them different? Catena 28, 157-169.

Yachi, S., Loreau, M., 1999. Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: the insurance hypothesis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A. 96, 1463-1468.

Young, T.P., Petersen, D.A., Clary, J.J., 2005. The ecology of restoration: historical links, emerging issues and unexplored realms. Ecology Letters 8, 662-673.

Zackrisson, O, Nilsson, M.C., Wardle D., 1996. Key ecological function of charcoal from wildfire in the Boreal forest. Oikos 77, 10-9.

Zaman, M., Chang, S.X., 2004. Effects of substrate quality, temperature and moisture on gross nitrogen mineralization. Biology and Fertility of Soils. 39, 269-279.

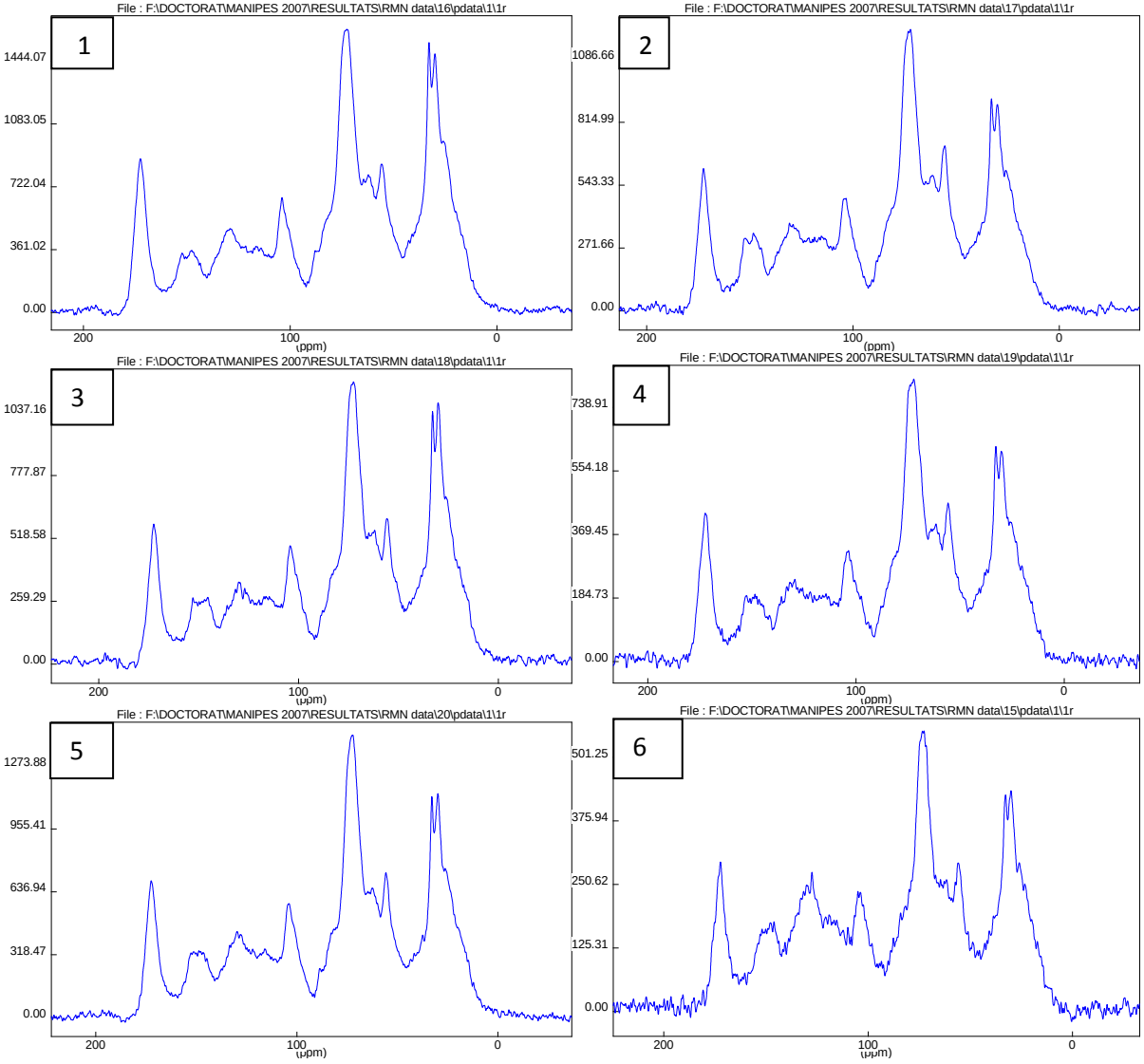
Zaman, M., Matsushima, M., Chang, S.X., Inubushi, K., Nguyen, L., Goto, S., Kaneko, F., Yoneyama, T., 2004. Nitrogen mineralization, N_2O production and soil microbiological properties as affected by long-term applications of sewage sludge composts. Biology and Fertility of Soils 40, 101-109.

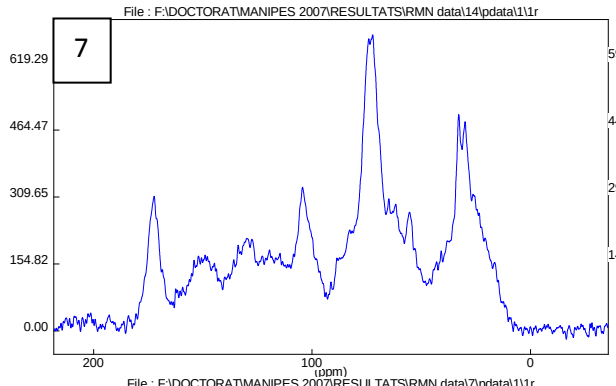
Zhou, L., Huang, J., Lu, F., Han, X., 2009. Effects of prescribed burning and seasonal and interannual climate variation on nitrogen mineralization in a typical steppe in Inner Mongolia. Soil Biology and Biochemistry 41, 796-803.

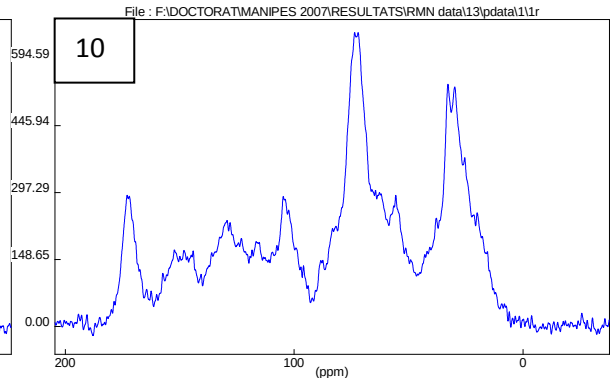
Zornoza, R., Guerrero, C., Mataix-Solera, J., Arcenegui, V., Mataix-Beneyto, J., 2006. Assessing air-drying and rewetting pre-treatment effect on some soil enzyme activities under Mediterranean conditions. Soil Biology and Biochemistry 38, 2125-2134.

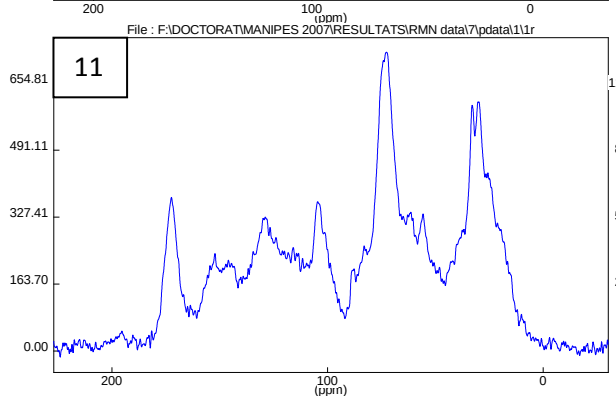
Annexes

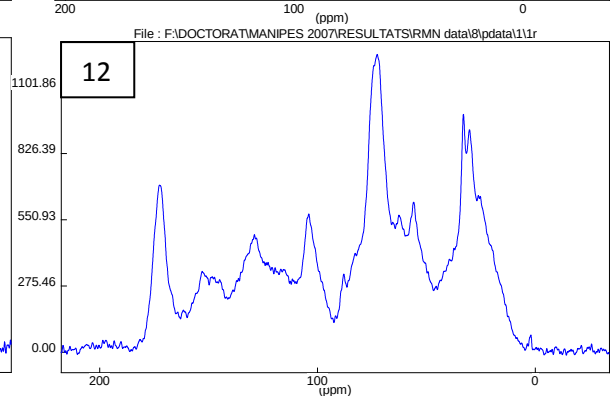
Annexe 1 : Spectres RMN du ^{13}C des sols de la campagne de prélèvement en 2007. Les numéros des échantillons correspondent à l'histoire d'incendie de la table 3.2.

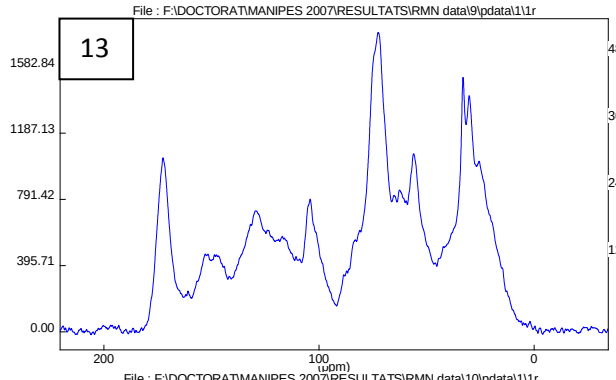


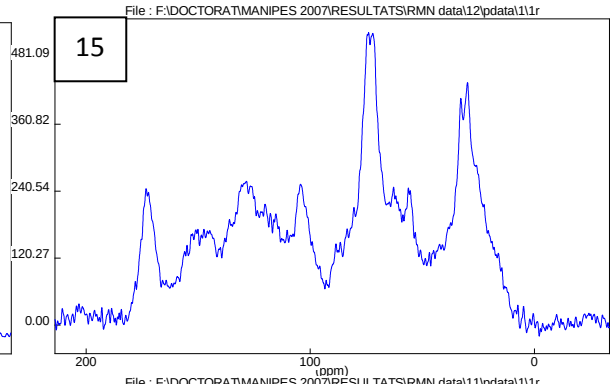

File : F:\DOCTORAT\MANIPES 2007\RESULTATS\RMN data\14\pdata\1\1r
7
619.29
464.47
309.65
154.82
0.00
200
100
0
(ppm)

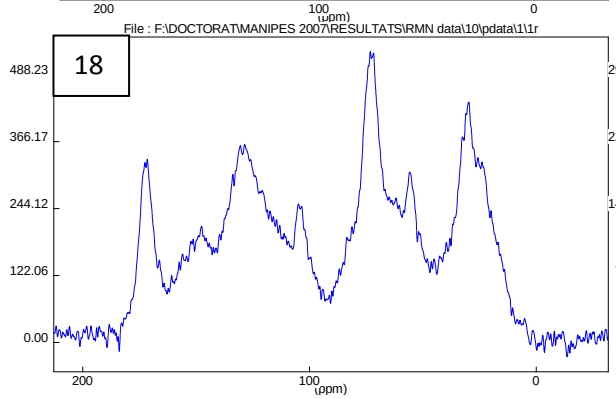

File : F:\DOCTORAT\MANIPES 2007\RESULTATS\RMN data\13\pdata\1\1r
10
594.59
445.94
297.29
148.65
0.00
200
100
0
(ppm)

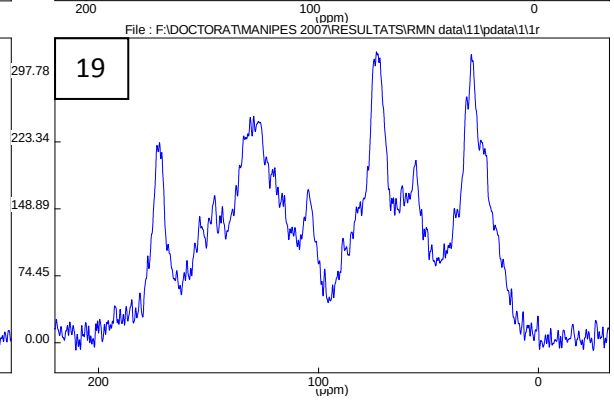

File : F:\DOCTORAT\MANIPES 2007\RESULTATS\RMN data\7\pdata\1\1r
11
654.81
491.11
327.41
163.70
0.00
200
100
0
(ppm)

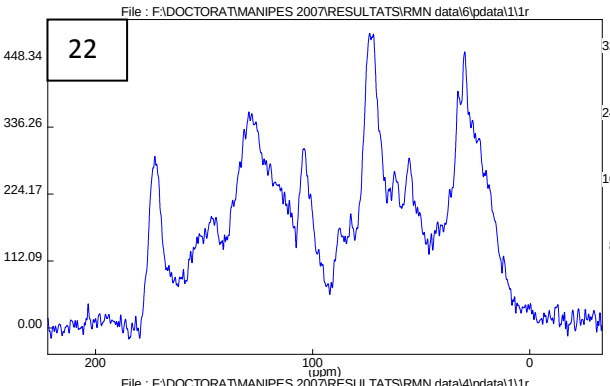

File : F:\DOCTORAT\MANIPES 2007\RESULTATS\RMN data\8\pdata\1\1r
12
1101.86
826.39
550.93
275.46
0.00
200
100
0
(ppm)

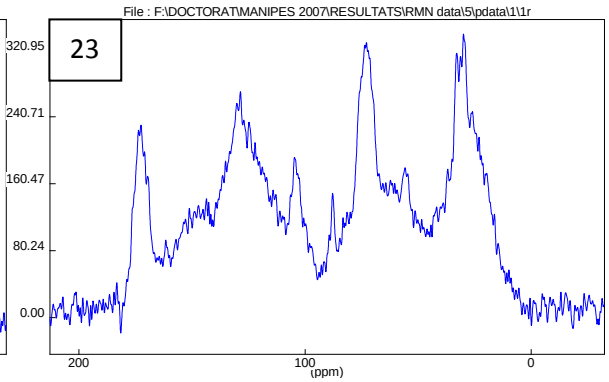

File : F:\DOCTORAT\MANIPES 2007\RESULTATS\RMN data\9\pdata\1\1r
13
1582.84
1187.13
791.42
395.71
0.00
200
100
0
(ppm)

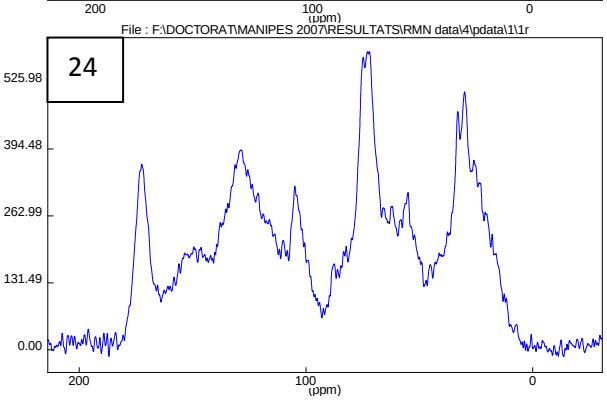

File : F:\DOCTORAT\MANIPES 2007\RESULTATS\RMN data\12\pdata\1\1r
15
481.09
360.82
240.54
120.27
0.00
200
100
0
(ppm)


File : F:\DOCTORAT\MANIPES 2007\RESULTATS\RMN data\10\pdata\1\1r
18
488.23
366.17
244.12
122.06
0.00
200
100
0
(ppm)


File : F:\DOCTORAT\MANIPES 2007\RESULTATS\RMN data\11\pdata\1\1r
19
297.78
223.34
148.89
74.45
0.00
200
100
0
(ppm)


File : F:\DOCTORAT\MANIPES 2007\RESULTATS\RMN data\6\pdata\1\1r
22
448.34
336.26
224.17
112.09
0.00
200
100
0
(ppm)


File : F:\DOCTORAT\MANIPES 2007\RESULTATS\RMN data\5\pdata\1\1r
23
320.95
240.71
160.47
80.24
0.00
200
100
0
(ppm)


File : F:\DOCTORAT\MANIPES 2007\RESULTATS\RMN data\4\pdata\1\1r
24
525.98
394.48
262.99
131.49
0.00
200
100
0
(ppm)

Vulnérabilité des sols méditerranéens aux incendies récurrents et restauration de leurs qualités chimiques et microbiologiques par l'apport de composts

Résumé

A partir de la fin des années 1960, la fermeture des milieux consécutive à la déprise agricole a favorisé la recrudescence des grands feux, et au plan local, a augmenté la fréquence des incendies. Les objectifs de la thèse étaient d'évaluer les effets des incendies récurrents sur la capacité de résilience des propriétés microbiennes des sols, d'identifier les principaux facteurs impliqués dans la résilience microbienne et d'évaluer l'efficacité d'apports de composts pour favoriser la restauration de la qualité chimique et microbiologique des sols. Les dynamiques de retour à court et long terme des activités de minéralisation du C et du N, des activité enzymatiques et de la diversité catabolique des communautés microbiennes, ainsi que leur stabilité à des stress hydriques supplémentaires, ont été évaluées sous des régimes d'incendie fréquents et peu fréquents. La matière organique (MO) a été caractérisée par les techniques IRTF et RMN CPMAS du ^{13}C. Les effets d'un apport de composts de boues d'épuration urbaines et de déchets verts sur la qualité des sols ont été étudiés *in-situ* sur des sols fréquemment incendiés en croisant 3 niveaux de maturité (3 semaines, 3 mois et 9 mois) et 3 temps depuis le dernier feu (10 mois, 5 ans et 18 ans). Les résultats ont montré que les incendies répétés accélèrent le retour après le feu de la nitrification nette et des profils cataboliques mais affectent durablement la plupart des autres fonctions microbiennes. L'activité respiratoire des sols récemment incendiés s'est avérée plus résistante aux stress hydriques mais également moins résiliente lorsque les feux sont récurrents. Les résultats démontrent le rôle limitant de l'évolution de la MO, en particulier de son degré d'aromaticité, sur la dynamique de retour des fonctions microbiennes après les feux et leur résilience aux stress. L'apport des composts sur les sols fréquemment incendiés est une solution efficace pour restaurer la qualité des sols mais nécessite de sélectionner une maturité adaptée à l'histoire contemporaine d'incendie.

Mots clés: Incendies, sol, activités enzymatiques, communautés microbiennes, CLPPs, résistance, résilience, matière organique, nutriments, SPIR, SMIR, RMN ^{13}C, qualité de compost, restauration.

Vulnerability of mediterranean soils to recurrent fires and restoration of their chemical and microbiological qualities by providing compost

Abstract

Since the late 1960s, the closure of land following the decline of agriculture has encouraged a new wave of large fires, and locally, increased fire frequency. The goals of this research were to estimate the effects of recurrent fires on the resilience of soil microbial properties, to identify the key factors involved in microbial resilience and to assess the efficiency of compost addition to support the restoration of soil chemical and microbiological quality. The recovery in the short and long term of mineralising activities of C and N cycles, enzymes activities and catabolic diversity of microbial communities and their stability under additional water stress, were estimated after frequent and infrequent fire regimes. Organic matter (OM) was characterised by FTIR and NMR ^{13}C CPMAS techniques. The addition of sewage sludge and green waste composts on soil quality were examined *in-situ* in frequently burned soils by crossing three levels of maturity (3 weeks, 3 months and 9 months) and three times since the last fire (10 months, 5 years and 18 years). The results showed that repeated wildfires improve the recovery after fire of net nitrification and catabolic profiles but affect most other microbial functions for a long time. Respiratory activity in recently burned soil happened to be more resistant to water stress but also less resilient under recurrent wildfire regime. The results reveal the limiting role of the evolution of OM, especially its degree of aromaticity, on the recovery of microbial functions after the fires and their resilience to stress. The addition of compost on frequently burned soils is an efficient restoration procedure but needs to select a maturity degree of compost adapted to wildfire history.

Keywords: Wildfires, soil, enzyme activities, microbial communities, CLPPs, resistance, resilience, organic matter, nutrients, NIRS, MIRS, NMR ^{13}C, compost quality, restoration.