

Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable  
GESTION DES IMPACTS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE (GICC)

PROGRAMME 2000  
Juillet 2001 - décembre 2003

**Indicateurs dendro-écologiques des effets des  
changements environnementaux sur la croissance et les  
propriétés du bois d'espèces forestières majeures**

Coordinateur:

GUEHL Jean-Marc  
UMR INRA-UHP Nancy 1  
Ecologie et Ecophysiologie Forestières  
INRA Centre de Nancy  
54280 Champenoux  
[guehl@nancy.inra.fr](mailto:guehl@nancy.inra.fr)

Rapport final

## Participants

UMR INRA-Université Henri Poincaré Nancy I  
Ecologie et Ecophysiologie Forestières

- Equipe Bioclimatologie et Ecophysiologie : S ELHANI (Post-doc projet UE-RTN Netcarb) JM GUEHL (DR),
- Equipe Phytoécologie et Pollution Atmosphérique : JL DUPOUEY (DR), C. ROSE (AI), F GEREMIA (TR), B. FERNANDEZ (thésarde)
- Equipe Ecophysiologie Cellulaire : P DIZENGREMEL (PR), J GERARD (TR)
- Pôle Analytique : C BRECHET (IE), Marc OURRY (CES)

Avec l'appui de :

UMR-FARE INRA-Université Reims : B CHABBERT (Equipe Parois et Matériaux Fibreux)

## 1. INTRODUCTION

Il existe maintenant un large consensus concernant le fait que l'environnement global est en train de se modifier (augmentation de la concentration atmosphérique en CO<sub>2</sub> de plus de 35% depuis le début de l'ère industrielle, climat, dépôts azotés, sol...) et que, dans de nombreuses situations, ces modifications environnementales ont déjà affecté, ou sont en train d'affecter, la productivité ou le fonctionnement des couverts végétaux et notamment des peuplements forestiers, ainsi que le fonctionnement des écosystèmes. Un résultat majeur obtenu au cours des dernières années dans le domaine de la recherche forestière consiste en la mise en évidence d'une augmentation de la productivité forestière depuis le début du XX<sup>ème</sup> siècle, ou même lors des dernières décennies, dans différentes parties de l'Europe.

Cependant les causes précises de telles observations ne peuvent pas être clairement identifiées parmi les différentes composantes des changements environnementaux, notamment parce que l'on manque encore de méthodes opérationnelles (par exemple indicateurs environnementaux simples, modèles de croissance) permettant de séparer les effets sylviculturaux et environnementaux dans l'analyse des tendances à long terme de la croissance.

Les approches dendro-chimiques basées sur l'analyse rétrospective du contenu en éléments minéraux des cernes annuels d'accroissement des arbres ont pour objectif d'élucider les conditions nutritionnelles passées des arbres ainsi que leur évolution temporelle. L'extension de ces approches aux isotopes stables constitue une voie prometteuse car les signatures isotopiques naturelles peuvent être associées à des caractéristiques fonctionnelles à l'échelle de l'arbre ou à celle de l'écosystème.

□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□ (δ<sup>13</sup>C) est un indicateur de l'efficacité d'utilisation de l'eau (rapport photosynthèse/transpiration) (FARQUHAR et al. 1982). L'analyse rétrospective de δ<sup>13</sup>C des cernes a permis de montrer que dans le cas du sapin pectiné dans le Jura (BERT et al ) et du hêtre sur le plateau Lorrain (DUQUESNAY et al 1999) l'augmentation de la productivité depuis un siècle est accompagnée d'une augmentation de l'efficacité d'utilisation de l'eau de l'ordre de 30 %.

Ainsi, il est possible d'utiliser des approches rétrospectives dendro-écologiques non seulement pour l'évaluation des changements passés ou en cours de productivité, mais également pour analyser les causes de ces changements.

L'évolution à long terme de l'intensité des dépôts azotés atmosphériques affecte également l'évolution du signal <sup>15</sup>N des arbres (HÖGBERG 1997) à la fois à travers un effet direct de composition isotopique de la source azotée et des effets de discrimination isotopique liées aux processus aboutissant à des pertes en azote du sol (dénitrification, drainage...). La combinaison des outils de dendrochimie classique (LEVY et al. 1996) et de l'approche <sup>15</sup>N constitue une voie prometteuse, non encore explorée, pour l'étude de l'évolution à long terme du statut azoté des arbres et des écosystèmes.

L'azote est un élément extrêmement mobile dans le bois à l'échelle interannuelle. Les composés formés durant une année donnée peuvent être distribués dans les cernes formés durant les années antérieures et peuvent être remobilisés ultérieurement pour utilisation

métabolique. Cette dynamique de l'azote rend difficile l'interprétation des signatures isotopiques de l'azote dans les cernes.

Le premier objectif visé au début de ce projet a été de tester l'approche  $^{15}\text{N}$  dans les cernes en se focalisant sur le hêtre (*Fagus sylvatica* L.) et en mettant à profit une expérimentation de marquage artificiel fort préexistante. Plus précisément, il s'agissait de déterminer si l'élimination par extraction chimique de composés non liés aux structures pariétales, donnant accès à une fraction de composés azotés pariétaux 'immobilisés', permet d'améliorer l'analyse de la résolution temporelle du signal  $^{15}\text{N}$  dans les cernes successifs.

Dans une seconde étape, nous avons entrepris une validation de l'approche  $^{15}\text{N}$  dans les cernes en exploitant une situation de marquage artificielle plus proche des conditions naturelles, liée à une expérimentation de fertilisation dans un peuplement de hêtre en Forêt de Fougères (Bretagne). La résolution temporelle était étudiée ici par comparaison des cernes formés avant ou après fertilisation. Des analyses conjointes de largeur des cernes (croissance en diamètre) et de  $\delta^{13}\text{C}$  (efficacité d'utilisation de l'eau) ont été effectuées.

## 2. RESUME ETENDU

Un résultat majeur obtenu au cours des dernières années dans le domaine de la recherche forestière consiste en la mise en évidence d'une augmentation de la productivité forestière depuis le début du XX<sup>ème</sup> siècle, ou même lors des dernières décennies, dans différentes parties de l'Europe. Cependant les causes précises de telles observations ne peuvent pas être clairement identifiées parmi les différentes composantes des changements environnementaux (CO<sub>2</sub> atmosphérique, dépôts azotés...), notamment parce que l'on manque encore de méthodes opérationnelles (par exemple indicateurs environnementaux simples, modèles de croissance) permettant de séparer les effets sylviculturaux et environnementaux dans l'analyse des tendances à long terme de la croissance.

Dans le présent projet nous avons cherché à développer des outils pour des approches rétrospectives dendro-écologiques, non seulement pour l'évaluation des changements de productivité passés ou en cours, mais également pour analyser les causes de ces changements. En particulier nous avons analysé l'apport potentiel des outils isotopiques, en combinaison avec les analyses classiques de largeur de cernes d'accroissement. Cette extension constitue une voie peu explorée à ce jour mais prometteuse car les signatures isotopiques naturelles peuvent être associées à des caractéristiques fonctionnelles à l'échelle de l'arbre ou à celle de l'écosystème, offrant ainsi la possibilité de définition de nouveaux indicateurs environnementaux fiables. Nous avons mis en œuvre une approche isotopique duale :

- Composition isotopique en azote ( $\delta^{15}\text{N}$ ). L'intensité des dépôts azotés atmosphériques peut affecter l'évolution du signal  $^{15}\text{N}$  des arbres à travers un effet direct de composition isotopique de la source azotée des arbres et à travers des effets indirects de discrimination isotopique liés aux processus aboutissant à des pertes en azote du sol (dénitrification, drainage...). L'interprétation de ces signatures  $^{15}\text{N}$  est compliquée par le fait qu'une partie de l'azote du bois est extrêmement mobile à l'échelle interannuelle, réduisant la résolution interannuelle du signal. Une phase de validation méthodologique restait nécessaire.
- La composition isotopique en carbone de la matière végétale ( $\delta^{13}\text{C}$ ) est un indicateur de l'efficacité d'utilisation de l'eau (WUE, rapport photosynthèse/transpiration). L'analyse rétrospective du  $\delta^{13}\text{C}$  des cernes a été effectuée sur fraction cellulose (carbon immobilisé) selon une procédure éprouvée et validée depuis plusieurs années dans notre unité.

Le projet a impliqué différentes équipes de l'UMR INRA-Université Henri Poincaré Nancy I Ecologie et Ecophysiologie Forestières avec des tâches complémentaires :

- Equipe Bioclimatologie et Ecophysiologie : S ELHANI (Post-doc projet UE-RTN Netcarb), JM GUEHL (DR). Approches isotopiques pour  $^{15}\text{N}$  et  $^{13}\text{C}$  et interprétations écophysiologiques.
- Equipe Phytoécologie et Pollution Atmosphérique : JL DUPOUEY (DR), C. ROSE (AI), F GEREMIA (TR), B. FERNANDEZ (thésarde). Echantillonnages sur le terrain et mise en œuvre des techniques d'analyse des cernes.
- Equipe Ecophysiologie Cellulaire : P DIZENGREMEL (PR), J GERARD (TR). Adaptation et mise en œuvre des techniques d'extraction chimique.
- Pôle Analytique : C BRECHET (IE), Marc OURRY (CES). Analyses élémentaires et isotopiques avec notamment adaptations spécifiques aux mesures  $^{15}\text{N}$  sur échantillons réduits.

Dans une première phase du projet, nous avons mis au point et testé l'approche  $^{15}\text{N}$  dans les cernes en nous focalisant sur le hêtre (*Fagus sylvatica* L.) et en mettant à profit une expérimentation de marquage artificiel fort préexistante. Plus précisément, il s'agissait de déterminer si l'élimination par extraction chimique de composés non liés aux structures pariétales, donnant accès à une fraction de composés azotés pariétaux 'immobilisés', permet d'améliorer l'analyse de la résolution temporelle du signal  $^{15}\text{N}$  dans les cernes successifs. La concentration [N] et la composition isotopique ( $\delta^{15}\text{N}$ ) de l'azote ont été mesurées dans les cernes annuels d'arbres d'un jeune peuplement du Nord-Est de la France, âgés de 16 ans. Les analyses ont été effectuées sur des échantillons de bois avant et après l'extraction des composés labiles par des solvants organiques. Les arbres ont été soumis à un enrichissement en  $^{15}\text{N}$  par une solution d'urée pulvérisée sur les feuilles. L'enrichissement a été effectué durant trois années successives: 1993, 1994 et 1995. Les arbres ont été échantillonnés en 2001. Le  $\delta^{15}\text{N}$  du bois de l'arbre non marqué variait entre  $-4$  et  $-7$  ‰. Le marquage a conduit à une augmentation significative de  $\delta^{15}\text{N}$  dans le bois brut pour les années 1994, 1995 et 1996. On a également trouvé des valeurs élevées de  $\delta^{15}\text{N}$  dans les cernes formés avant et après la période de marquage. Cela traduit une forte mobilité de N entre les cernes. L'extraction a éliminé 36 % de l'azote total et 14 % du carbone. Cette procédure a permis d'améliorer la résolution inter-annuelle de [N] et  $\delta^{15}\text{N}$ . Son application autorise l'utilisation de ces variables en dendroécologie pour détecter les modifications isotopiques au niveau des sources de N utilisées par les arbres.

Dans une seconde phase, nous avons entrepris une validation plus affinée de l'approche  $^{15}\text{N}$  dans les cernes en exploitant une situation de marquage artificielle plus proche des conditions naturelles, liée à une expérimentation de fertilisation dans un peuplement âgé de 82 ans de hêtre en Forêt de Fougères (Bretagne). La résolution temporelle était étudiée ici par comparaison des cernes formés avant ou après fertilisation. Des analyses conjointes de largeur des cernes (croissance en diamètre) et de  $\delta^{13}\text{C}$  ont été effectuées. Quatre traitements de fertilisation (N, Ca, NPKCa et témoins non fertilisés) ont été considérés. La fertilisation a eu lieu au cours de deux années successives (1973 et 1974) vingt ans avant l'échantillonnage des carottes de bois. Dans le cas du traitement témoin non fertilisé, une diminution continue de  $\delta^{15}\text{N}$  était notée au cours du temps. Une nette divergence du signal  $\delta^{15}\text{N}$  était notée pour les traitements avec fertilisation (augmentation de  $\delta^{15}\text{N}$ ) comparativement au témoin (diminution de  $\delta^{15}\text{N}$ ) à partir du début de la fertilisation (1973). Ainsi nous avons pu détecter rétrospectivement de façon précise l'intervention de la nouvelle source azotée liée à la fertilisation. Le traitement NPKCa a eu l'effet le plus important sur la croissance radiale (+29% par rapport au témoin), cependant que le traitement N n'a pas affecté la croissance. Dans le cas du traitement N on a également noté une diminution de WUE par rapport au témoin durant 6 années après fertilisation alors que pour le traitement NPKCa aucun effet significatif n'était noté.

En conclusion, l'utilisation conjointe de différents isotopes ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  et probablement aussi  $^{18}\text{O}$ ) en association avec les outils dendro-écologiques classiques s'avère potentiellement très pertinente pour l'interprétation causale environnementale des évolutions de productivité forestière. Il est possible maintenant de passer à la phase réellement opérationnelle concernant l'utilisation des isotopes stables comme indicateurs environnementaux dendro-écologiques. Nous nous attachons à rechercher les moyens et situations permettant d'aborder cette phase avec la considération de gradients géographiques dans le cadre de réseaux d'observations à grande échelle au niveau européen. Dans une perspective plus à long terme, il nous paraît nécessaire d'intégrer également une dimension modélisatrice dans une telle approche.

### 3. METHODOLOGIES D'ETUDE

#### 3.1 Validation de l'approche $^{15}\text{N}$ dans les cernes de hêtre : marquage expérimental

Le site expérimental étudié se situe en forêt domaniale de Puvénelle (Meurthe-et-Moselle). Tous les arbres d'une placette de 100 m<sup>2</sup> environ dans un peuplement pur de hêtre y ont subi une pulvérisation avec de l'urée enrichie en  $^{15}\text{N}$  (Abondance isotopique en  $^{15}\text{N}$  % de 99,5%) en fin de saison de végétation 1993, 1994 et 1995 (voir ZELLER et *al.*, 1998 pour plus de détails sur l'enrichissement des arbres). Il importe de noter que les quantités de N ainsi apportées comme traceur isotopique étaient trop faibles pour affecter la fertilité du sol. Deux arbres ont été échantillonnés dans cette placette à l'automne 2001. Un troisième arbre (témoin non marqué), de même âge, a été prélevé dans la même forêt, à 50 mètres de la placette enrichie. Une rondelle (épaisseur 20 cm) a été prélevée à la base du tronc de chaque arbre et conservé dans la carboglace. Sur chaque arbre ont été mesurées les longueurs des unités de croissance annuelles, repérées par les cicatrices de bourgeons terminaux. Au laboratoire, les morceaux de tronc ont été débités en disques, puis lyophilisés. La largeur des cernes a été mesurée à la base de chaque arbre selon 8 rayons. Ces cernes ont été datés avec précision par 5 méthodes d'inter-datation appliquées successivement : des rayons entre eux, des rondelles entre elles, des mesures de croissance radiales avec celles de croissance en hauteur, des arbres entre eux et des arbres avec les variations climatiques de la station de Nancy (forte corrélation avec la pluviométrie de la saison de végétation). Les cernes ont ensuite été séparés les uns des autres avec un scalpel, puis séchés à 55°C pendant une nuit. Le bois a enfin été broyé dans un broyeur à billes. Le bois a ensuite été préparé pour analyse des contenus en  $^{15}\text{N}$ , soit directement sur le broyat obtenu dans l'étape précédente, soit après élimination des résines et hydrosolubles (4h dans une solution 1:1 de toluène, 4h dans l'éthanol pur et 1h dans l'eau bouillante, selon le protocole de SHEPPARD & THOMPSON, 2000).

La poudre végétale, ainsi que le reliquat après extraction, ont ensuite été utilisés pour analyses isotopiques (spectromètre de masse isotopique Finnigan Delta S) ou analyses élémentaires de C et N.

La composition isotopique en N  $\square\square\square\square$  exprimée comme :

$$\delta^{15}\text{N} \text{ ‰} = \frac{R_{\text{ech}} - R_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}}} \times 1000,$$

où  $R_{\text{ech}}$  est le rapport isotopique  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  de l'échantillon,  $R_{\text{standard}}$  est le rapport isotopique du standard (le  $\text{N}_2$  atmosphérique).

Les travaux de DILL et *al.* (1984) sur le hêtre font état de l'existence d'une fraction azotée sous forme de glycoprotéines liés à des polymères de lignines. Nous avons entrepris d'isoler les lignines pour vérifier l'existence de molécules azotées piégées lors de la formation du bois. En effet, il serait particulièrement pertinent de pouvoir appliquer l'approche isotopique rétrospective sur une molécule, ou un groupe de molécules, bien identifiés afin d'éliminer les faibles différences en signatures isotopiques liés aux fractionnements métaboliques. En raison de la grande quantité de matériel nécessaire pour l'extraction des lignines, on a regroupé les cernes en deux catégories en fonction de leur signal isotopique (enrichi ou naturel). Des extractions ont été faites sur le bois issu des arbres enrichis et témoin. La méthode qu'on a

appliquée est celle dénommée '*Milled wood lignin*'. Les manipulations ont été faite à l'INRA de Reims en collaboration avec Brigitte CHABBERT (Parois et matériaux fibreux UMR-FARE). Les extraits de lignines, ainsi que les produits intermédiaires du bois issus des échantillons enrichi et témoin ont été analysés dans le but de tester l'hypothèse de l'existence d'une fraction d'azote piégée dans les structures de lignines.

### 3.2 Etude de l'impact de différent types de fertilisation sur l'évolution à long terme des signaux isotopiques $\delta^{15}\text{N}$ □ □ $\delta^{13}\text{C}$

Le dispositif expérimental a été installé en 1972 dans la forêt domaniale de Fougères (Bretagne) dans un peuplement issu de régénération naturelle (1910). Quatre traitements ont été appliqués : N, P, Ca et NPKCa (fertilisation complète) plus un témoin avec 4 répétitions (blocs), soit 20 placettes au total. Le traitement P n'a pas été étudié ici. Des apports d'azote (100 kg N/ha (ammonitrate) en combinaison avec P, K et Ca ont été effectués en 1973 et en 1974.

Nous avons utilisé 5 carottes par bloc issues de 5 arbres dominants différents, soit 80 carottes étudiées au total (20 carottes par traitement x 4 traitements). L'âge de chaque arbre a été déterminé. Nous avons sélectionné une période d'étude comprise entre 1953 et 1993. Les cernes formé durant cette période ont été séparés soigneusement et les cernes appartenant à la même placette et même traitement ont été regroupés et broyés. Les cernes formés entre 1969 et 1981, correspondant à une période englobant la période de fertilisation (1973 et 1974), ont tous été analysés individuellement. Pour cette période, Pour les périodes plus éloignées de la fertilisation (1953-1968 et 1982-1992), un cerne sur quatre seulement a été analysé.

La poudre issue de chaque traitement et de chaque placette a été divisée en trois lots: un lot pour les analyses sur le matériel brut et deux lots correspondant à deux types de préparation du bois:

- Pour les analyses isotopiques de l'azote, nous avons traité la poudre du bois par la méthode de SHEPPARD & THOMPSON, (2000) pour éliminer les composés azotés labiles.
- Pour les analyses isotopique du carbone, nous avons extrait la cellulose selon la méthode de LEAVITT & DANZER, (1993).

Un total de 800 échantillons environ ont été analysés séparément pour le carbone et pour l'azote soit 1600 analyses effectuées.

La composition isotopique en azote ( $\delta^{15}\text{N}$ ) a été déterminée comme indiqué ci-dessus. Un prélèvement du sol a été effectué en juillet 2003 sur les placettes d'étude. Nous avons aussi récupéré les échantillons du sol prélevés en 1995 des mêmes placettes. Le but était de connaître le  $\delta^{15}\text{N}$  des sols de chaque placette afin de (1) pouvoir mettre en évidence une éventuelle dépendance entre le  $\delta^{15}\text{N}$  sol et  $\delta^{15}\text{N}$  des cernes et (2) connaître l'évolution de  $\delta^{15}\text{N}$  dans le sol. Les résultats de ces analyses ne sont pas encore disponibles.

La composition isotopique en carbone des échantillons a été déterminée comme :

$$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰} = \frac{R_{\text{ech}} - R_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}}} \times 1000,$$



où  $R_{ech}$  est le rapport isotopique  $^{13}C/^{12}C$  de l'échantillon,  $R_{standard}$  est le rapport isotopique du standard universel (Pee Dee Belemnite).

La discrimination isotopique du carbone ( $\Delta$ ) au cours de la photosynthèse est définie comme :

$$\Delta\text{‰} = \frac{\delta^{13}C_{plante} - \delta^{13}C_a}{1000 + \delta^{13}C_{plante}} 1000$$

où  $\delta^{13}C_a$  est la composition isotopique du  $CO_2$  atmosphérique. Cette variable présente une nette tendance à la diminution depuis le début de l'ère industrielle, liée à l'injection dans l'atmosphère de  $CO_2$  d'origine fossile appauvri en  $^{13}C$ . Nous avons pris cet effet en considération sur la base d'une compilation de données historiques diverses (glace polaire, cernes d'arbres, échantillons végétaux d'herbier). Depuis 1950, cet effet est de l'ordre de 1 ‰, soit l'ordre de grandeur des différences observées dans la présente étude entre différents traitements expérimentaux ou en fonction du temps. La discrimination isotopique du carbone est liée simplement (FARQUHAR et al, 1982) au rapport des concentrations intercellulaires et atmosphériques en  $CO_2$  ( $C_i/C_a$ ), lui même lié selon la loi de diffusion de Fick, à l'efficacité d'utilisation de l'eau (WUE) définie comme le rapport assimilation de  $CO_2$  (A) divisé par la conductance stomatique pour la vapeur d'eau (g) :

$$\Delta = a + (b - a) \frac{C_i}{C_a} = a + (b - a) \left( 1 - \frac{1.6 A}{C_a g} \right)$$

$$WUE = \frac{A}{g} = \frac{C_a b - \Delta}{1.6 b - a}$$

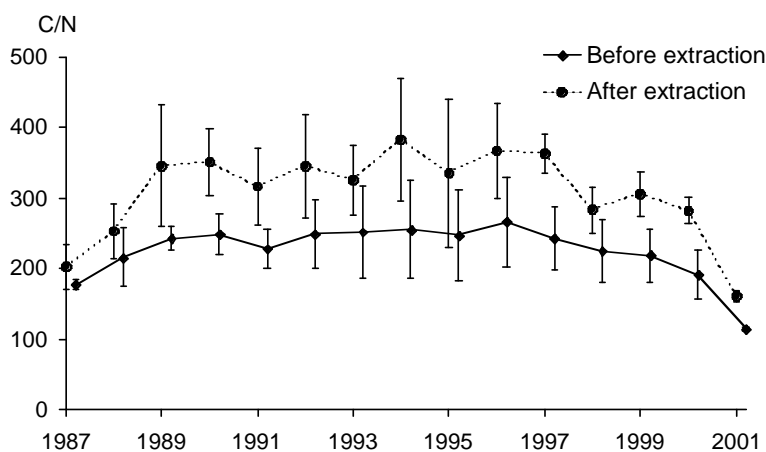
Il est à noter à partir de ces équations, qu'indépendamment des effets physiologiques liées à la modulation de  $\Delta$ , WUE dépend directement de la variable de forçage climatique  $C_a$ , qui a augmenté d'environ 20‰ depuis 1950.

## 4. RESULTATS

### 4.1. Validation de l'approche $^{15}\text{N}$ dans les cernes de hêtre : marquage expérimental

#### ■ Concentration en N et rapports C/N

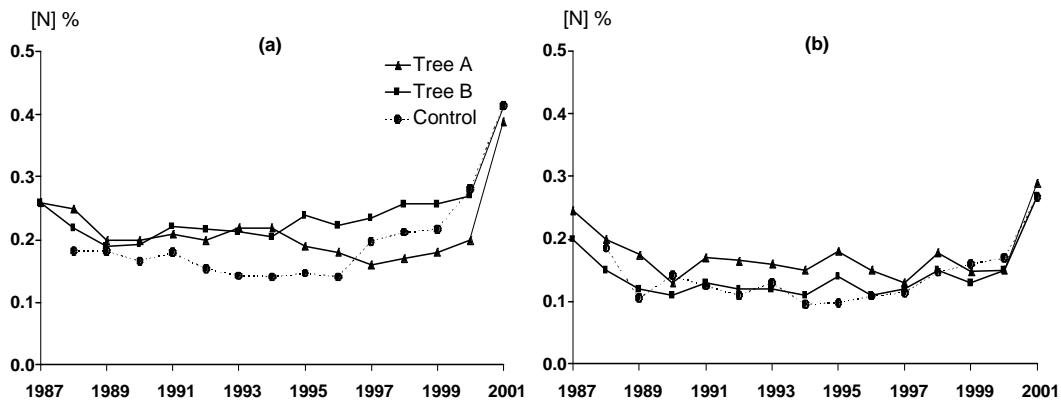
Les proportions de N restant présentes après extraction permettaient toujours la réalisation des analyses. En moyenne la concentration en N dans les cernes a diminué de 0.22% avant extraction à 0.150% après extraction, cependant que la concentration en C moyenne diminuait de 46.4% à 44.1%. Prenant en compte la perte de matériel durant l'extraction, on a observé une diminution de 36% de l'azote initial et de 14% du carbone initial en relation avec le traitement d'extraction. En conséquence, le rapport C/N était augmenté dans pratiquement tous les échantillons (figure 1). SHEPPARD ET THOMPSON (2000) ont observé que le type d'extraction que nous avons réalisé tend à éliminer principalement les formes solubles d'azote, les formes résiduelles liées aux lignines n'étant pas solubles dans l'eau ou les solvants organiques. Cependant il est n'est pas à exclure qu'il puisse y avoir échange d'azote entre compartiments de réserve et protéines liées aux structures ainsi que cela a été suggéré par SAUTER et al (1990) sur la base d'une étude détaillée des réserves protéiques dans le bois de jeunes peupliers.



**Figure 1.** Valeurs moyennes ( $\pm$  ES) du rapport C/N dans les cernes annuels des trois arbres étudiés avant et après extraction par les solvants organiques.

Les concentrations en N ( $[\text{N}]$ ) dans les jeunes arbres étudiés ici étaient élevées et variaient entre 0.14 et 0.41% dans les différents cernes avant extraction. (figure 2a). avant et après extraction, le cerne le plus récent présentait des valeurs de  $[\text{N}]$  plus élevées que les cernes précédents. Si l'on considère que les composés azotés sont surtout sous formes solubles, le traitement appliqué aurait du réduire  $[\text{N}]$ . dans le cerne le plus récent au niveau des valeurs des cernes antérieurs. Cette absence de différence dans le cerne extérieur avant et après extraction suggère soit (1) une possible 'contamination' d'azote provenant de tissus extérieurs au

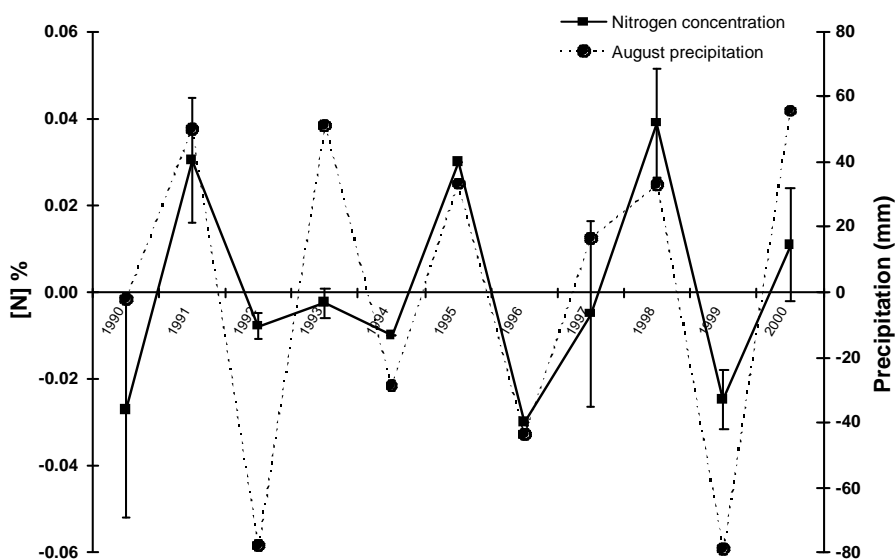
cambium (phloème et écorce) qui sont difficiles à séparer durant le découpage des cernes soit (2) une extraction non satisfaisante de l'azote mobile par la procédure utilisée.



**Figure 2.** Variations annuelles de  $\delta^{15}\text{N}$  dans les cernes des arbres marqués A et B et dans l'arbre témoin avant (a) et après (b) extraction.

Les résultats montrés dans la **figure 2a** confirment que [N] varie entre les cernes du centre au cerne extérieur. Plusieurs facteurs peuvent expliquer de telles variations : effet âge, conditions environnementales ou disponibilité en azote dans le sol. Il est intéressant de noter que le traitement d'extraction a rendu le signal [N] plus cohérent entre arbres (arbres A et B) que pour les valeurs avant extraction. L'arbre témoin, distant de 50 m environ, présentait un pattern différent. La similitude des patterns observés pour les arbres A et B après extraction (Fig. 2b) pourrait refléter un effet environnemental commun.

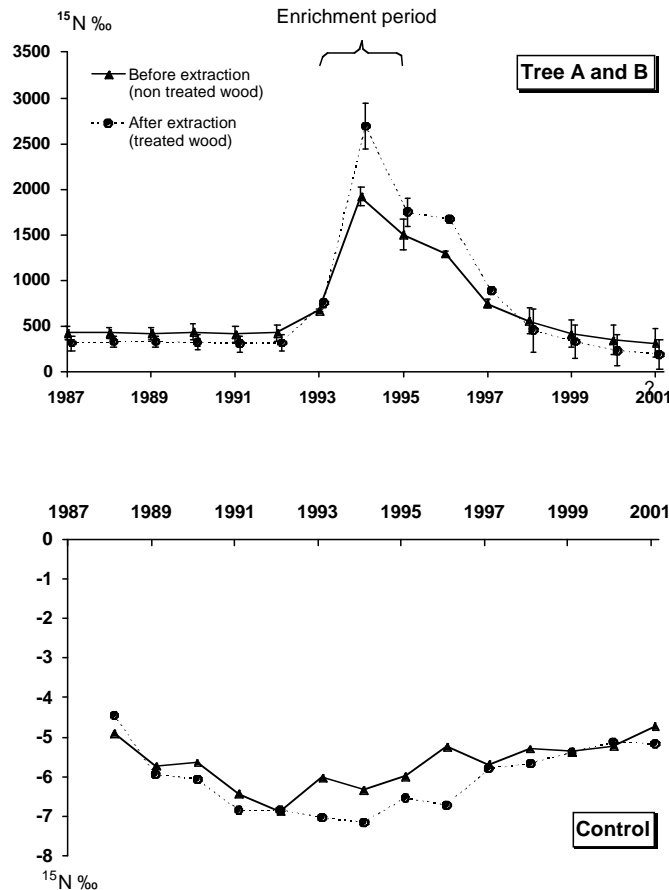
Nous avons étudié les corrélations entre ce signal interannuel commun pour la [N] et les principales variables climatiques (précipitations et températures moyennes mensuelles). Les précipitations d'août étaient négativement liées à la [N] au niveau interannuel pour la période 1990-2000 ( $r=-0.86$  et  $r=-0.94$  respectivement pour les arbres A et B, **figure 3**). Cette relation pourrait être liée à un effet du déficit hydrique sur la lignification à la fin de l'été.



**Figure 3.** Variations interannuelles des précipitations du mois d'août et des [N] après extraction dans les cernes des arbres A et B. Les données de précipitation et de [N] sont corrigées par rapport aux tendances à long terme (différences de premier ordre).

## ■ Isotopes de l'azote

Pour les arbres A et B marqués par  $^{15}\text{N}$ , la période de marquage (1993-1994) est caractérisée par une augmentation très marquée des valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$ , avec un décalage d'une année (figure 4). Les variations interannuelles n'étaient pas similaires avant et après la période de marquage : note une diminution graduelle de  $\delta^{15}\text{N}$ , avant ou après extraction, après la fin du marquage cependant que les valeurs isotopiques étaient uniformes pour la période précédant le marquage. Le décalage d'une année entre le marquage et le pic de  $\delta^{15}\text{N}$  est probablement à relier à la date tardive (septembre) de l'apport de  $^{15}\text{N}$  (urée). Ce résultat suggère que le métabolisme azoté de l'arbre ne permet plus de transfert important de N des feuilles au bois en formation en fin de saison de végétation. La diminution graduelle de  $\delta^{15}\text{N}$  après la fin de l'apport de  $\delta^{15}\text{N}$  durant au moins quatre ans montre qu'une partie importante de l'azote incorporé dans les cernes provient de pools azotés acquis durant les années antérieures.



**Figure 4.** Variations interannuelles de  $\delta^{15}\text{N}$  dans les cernes des arbres marqués A et B (valeurs moyennes  $\pm$  ES,  $n=2$ , marquage réalisé en 1993-1994) et pour l'arbre témoin avant et après extraction par des solvants organiques.

Les analyses dendrochimiques sont basées sur le principe que la concentration en un élément (ou un isotope) reflète les conditions environnementales lors de la période de formation des

cernes. Concernant N, il y a une limitation à cette approche, liée à la mobilité de N entre les différents cernes annuels. Les valeurs très stables de  $\delta^{15}\text{N}$  observés pour les arbres A et B avant le marquage, sont également nettement plus élevées notées pour la même période dans le cas de l'arbre témoin (figure 4). Ce résultat confirme le caractère très mobile de l'azote entre cernes. Cette mobilité peut être attribuée à l'existence de tissus vivants dans les rayons ligneux parenchymateux, qui sont impliqués dans le transfert de N vers l'intérieur de l'arbre et qui peuvent expliquer la redistribution uniforme de N, notamment dans le cas de jeunes arbres. Le hêtre est connu comme un modèle anatomique particulier concernant les tissus vivants dans le bois. Il y a de nombreuses zones de tissus vivants à l'intérieur du tronc, suggérant une duraminisation (transformation du bois de cœur) très tardive.

Il existe de nombreuses études faisant état de mesures de  $\delta^{15}\text{N}$  à l'échelle des écosystèmes (systèmes sol-plante essentiellement) (voir revue par HÖGBERG, 1997). Les données disponibles pour les abondances naturelles en  $^{15}\text{N}$  dans les cernes d'arbres restent rares. Dans notre étude, l'arbre témoin présentait des valeurs négatives de  $\delta^{15}\text{N}$  (-7 à -4‰) (figure 4), diminuant du centre de l'arbre jusqu'au cerne 1992, puis re-augmentant de 1992 à 2001. A noter également que l'extraction des formes mobiles de N a induit une diminution de 0.4‰ en moyenne. Cet effet relativement réduit, suggère que la pertinence de l'extraction se justifie plus par rapport à l'étude des patterns interannuels que par rapport à l'évaluation des valeurs absolues de  $\delta^{15}\text{N}$  dans le bois.

Pour la période précédant le marquage, les valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  après traitement étaient inférieures à celles avant traitement (-14 et -9% respectivement pour les arbres A et B) (figure 4). Les cernes formés au cours de cette période étaient caractérisés par des  $\delta^{15}\text{N}$  élevés par rapport au valeurs de l'arbre témoin, même pour les échantillons ayant été soumis à extraction. Deux hypothèses, d'ailleurs non exclusives, peuvent être mises en avant pour expliquer ce résultat : (1) la procédure d'extraction utilisée n'a pas permis d'éliminer entièrement les formes solubles de N échangeable entre cernes, (2) il peut y avoir échange de N entre les pools de réserve et les pools liés aux structures. Il est à noter que l'extraction de lignine que nous avons réalisée n'a pas amélioré le rendement de l'extraction de  $^{15}\text{N}$  : le  $\delta^{15}\text{N}$  dans les extraits de lignine était très voisin de celui obtenu après notre procédure courante d'extraction, bien que dans le cas de l'extraction de lignine, on ne retrouvait que 2 à 5 % du N initial dans les extraits.

A partir de nos données il est possible de calculer approximativement la proportion de  $^{15}\text{N}$  des cernes formés avant le marquage qui provient du marquage. Cette proportion est de 19 et 26 % pour les arbres A et B avant extraction. Elle est de 12 et 18% après extraction.

Au cours de la période de marquage, nous avons mis en évidence des valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  plus élevées après extraction qu'avant extraction (figure 4). L'extraction a donc conduit à une amplification du signal  $\delta^{15}\text{N}$  (de l'ordre de 30% pour l'année 1994). Cette différence des effets du traitement avant et pendant le marquage supporte l'hypothèse d'une incorporation importante de N récemment assimilé dans des pools liés aux structures au cours de l'année de formation d'un cerne donné. Au contraire pour les cernes formés avant le marquage et également pour les cernes les plus récents (1998 à 2001) ont notait une diminution de  $\delta^{15}\text{N}$  consécutivement à l'extraction traduisant sans doute l'élimination de composés labiles (réserves azotées), enrichis en  $^{15}\text{N}$ , qui étaient accumulés dans ces cernes.

## ■ *Conclusions*

Il serait approprié de pouvoir disposer de techniques d'extraction, ou de séparation moléculaire, permettant d'avoir accès à des composés pariétaux azotés bien identifiés, et de réduire les effets de fractionnements isotopiques purement métaboliques (analogie avec la cellulose utilisée pour les approches dendroécologiques impliquant  $^{13}\text{C}$ ). Nos résultats obtenus pour la fraction azotée associée aux lignines suggèrent que de tels composés n'existent pas sous une forme idéalement immobile.

Malgré la 'dilution' relative du signal  $^{15}\text{N}$  de part et d'autre des cernes correspondant à la période de marquage traduisant la mobilité des formes labiles d'azote, nous avons mis en évidence, grâce à la procédure d'extraction utilisée, un pic important et bien tranché de  $^{15}\text{N}$  correspondant à la période d'enrichissement. L'existence d'une telle résolution temporelle, paraît favorable à la mise en évidence de modifications à long terme du signal  $^{15}\text{N}$  des sources azotées disponibles pour les arbres.

### **4.2 Etude de l'impact de différent types de fertilisation sur l'évolution à long terme des signaux isotopiques $\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$ dans les cernes de hêtre.**

Il s'agissait ici d'analyser la résolution temporelle de  $^{15}\text{N}$  dans les cernes dans le cas d'un marquage lié à une fertilisation réalisée il y a une trentaine d'années et qui était moins accentué que dans le cas précédent. On se rapproche ainsi de situations réelles (analyse de gradients temporels ou spatiaux des dépôts azotés atmosphériques...). Nous avons également évalué des impacts de la fertilisation par l'analyse des largeurs de cernes et du  $\delta^{13}\text{C}$  de la cellulose des cernes (évaluation indirecte de l'efficacité d'utilisation de l'eau).

#### ■ *L'effet à long terme de la fertilisation sur le $\delta^{15}\text{N}$ du bois*

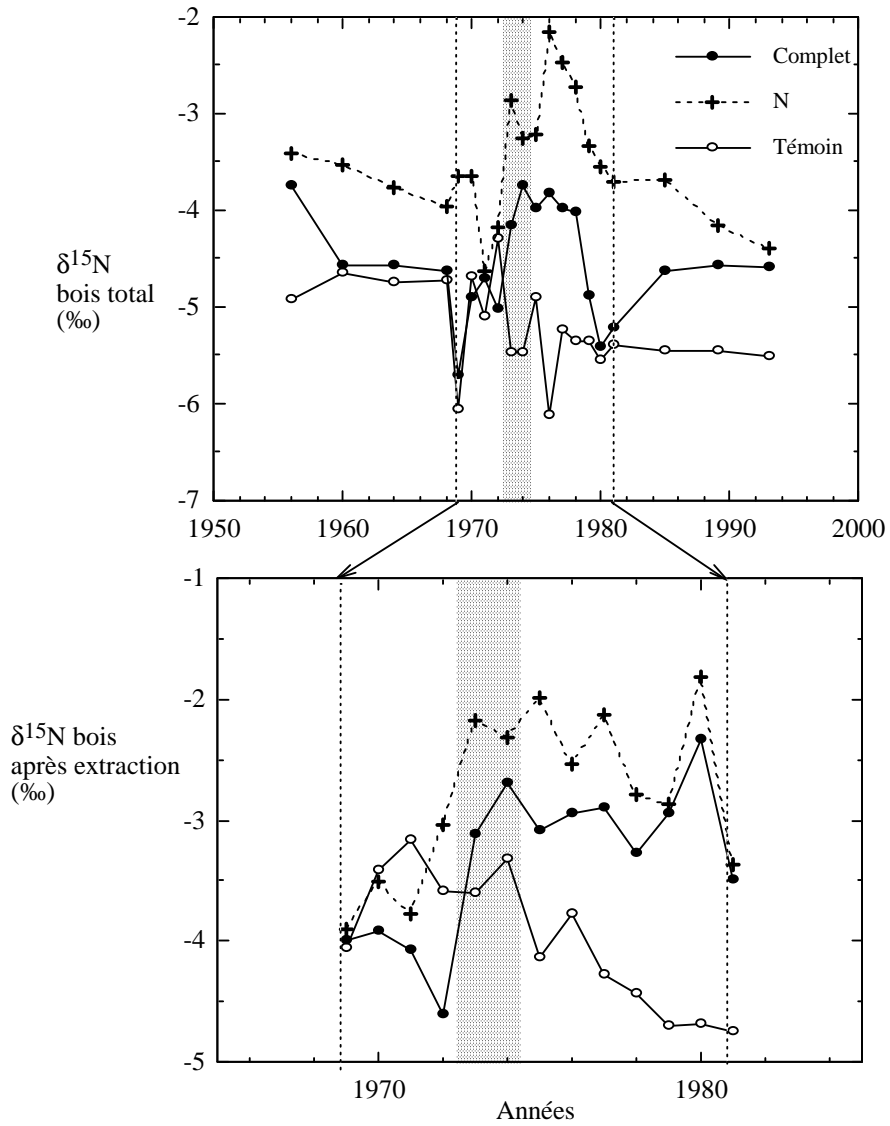
Les valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  du bois total (avant extraction) différaient très largement entre traitements, même pour la période précédant la fertilisation. Le traitement témoin présentait les valeurs les plus négatives (figure 5 haut). Le traitement N ainsi que le traitement 'complet' (N, P, K, Ca) présentaient, consécutivement à la fertilisation, une augmentation de  $\delta^{15}\text{N}$  par rapport au traitement témoin. Nous n'avons pas cherché à exploiter davantage ces données, en raison de la grande mobilité du N entre cernes que nous avons mise en évidence pour le bois total (sans extraction) qui pourrait impliquer un transfert de N acquis après fertilisation vers les cernes précédant la fertilisation. Cette caractéristique est également confirmée ici par le fait que pour la période 1969-1981, pour laquelle nous disposions des données  $\delta^{15}\text{N}$  avant et après extraction, une relation très lâche était trouvée entre les deux variables (figure 6 bas). Cette relation était beaucoup moins étroite que la relation équivalente observée dans le cas du  $\delta^{13}\text{C}$  dans le bois total et dans la cellulose du bois (figure 6 haut). Il est à remarquer aussi que dans le cas de la présente étude, l'extraction des composés mobiles de N a eu pour effet d'augmenter  $\delta^{15}\text{N}$  (points de mesure au dessus de la première bissectrice dans la figure 6c), cependant que pour l'étude ci-dessus le résultat inverse était observé (figure 4).

Pour ce qui concerne les échantillons après extraction (figure 6 bas et figure 9 haut), nous avons obtenu des patterns plus nets concernant l'effet des différents types de fertilisation. Peu de différences étaient observées avant fertilisation (cependant valeurs tendant à être plus

négligeable pour les arbres du traitement témoin.). Très nettement, nous avons noté un effet positif des deux types de fertilisation sur le signal  $\delta^{15}\text{N}$ , à la fois pour la période de fertilisation et après fertilisation. Il s'agit donc d'une réponse sans inertie au moment de la fertilisation. Pour les valeurs après extraction, on n'a pas noté de phase de retour vers le témoin pour les cernes les plus récents (pas d'analyse au delà de 1981 toutefois). Il convient de remarquer également la tendance à la diminution de  $\delta^{15}\text{N}$  en fonction du temps dans le cas du traitement témoin (figure 6 bas).

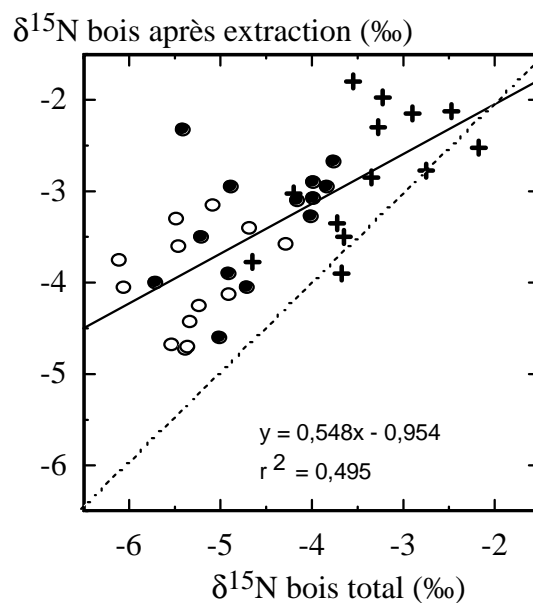
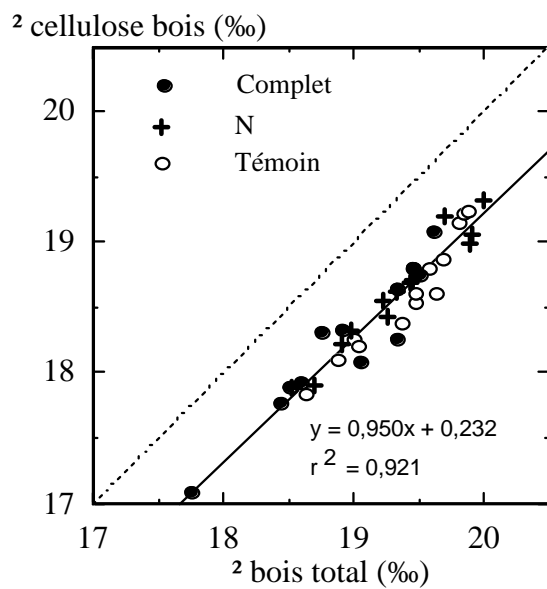
La diminution de  $\delta^{15}\text{N}$  en fonction du temps observée dans le cas du traitement témoin est similaire à des résultats trouvés par d'autres chercheurs. POULSON *et al.* (1995) ont observé une diminution marquée de ce signal durant trois décennies pour deux individus de *Tsuga canadensis* dans le New Hampshire (USA). PENUÉLAS ET ESTIARTE (1997) ont également mis en évidence une tendance décroissante du  $\delta^{15}\text{N}$  dans les cernes de l'espèce méditerranéenne *Quercus pubescens* au cours du dernier siècle (-0.014‰ par année). Les dépôts azotés dans cette dernière étude étaient de  $3 \text{ kg ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$   $\text{NH}_4\text{-N}$  et de  $3 \text{ kg ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$   $\text{NO}_3\text{-N}$  pour la période 1985-1990. Dans notre étude la diminution de  $\delta^{15}\text{N}$  était de 0.029 ‰ par an et les dépôts atmosphériques azotés mesurés près des peuplements étaient de  $5.6 \text{ kg ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$  de  $\text{NH}_4\text{-N}$  et  $2.4 \text{ kg ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$  de  $\text{NO}_3\text{-N}$  pour la période 1993-1996 (ULRICH *et al.*, 1998). POULSON *et al.* (1995) ont interprété la décroissance de  $\delta^{15}\text{N}$  par les apports de N d'origine atmosphérique sous forme de  $\text{NH}_4\text{-N}$  et de  $\text{NO}_3\text{-N}$  appauvris en  $^{15}\text{N}$ . PENUÉLAS et ESTIARTE (1997) ont interprété la tendance à la diminution de  $\delta^{15}\text{N}$  comme indicatrice d'une diminution des pertes de N et par une augmentation de la fixation de  $\text{N}_2$  atmosphérique et de la vitesse de minéralisation dans le sol. Dans une étude récente sur *Picea abies* en Suisse, SAURER *et al.* (2004) ont analysé la tendance à la diminution du  $\delta^{15}\text{N}$  des cernes de bois comme une conséquence de l'augmentation des émissions de  $\text{NH}_3$  du fait de l'intensification de l'agriculture. Nous suggérons que l'augmentation de l'âge des peuplements et les changements physiologiques liés aux modifications de structure, concernant notamment l'extension en profondeur des racines, peut également contribuer à la tendance négative manifestée par le signal  $\delta^{15}\text{N}$  au cours des ans. Il a été montré que le  $\delta^{15}\text{N}$  du sol augmente en fonction de la profondeur (SHEARER *et al.*, 1978 ; MARIOTTI *et al.*, 1980 ; NADELHOFFER et FRY, 1988 ; KOHZU *et al.*, 2003), cependant que la densité racinaire diminue. De plus, la densité des racines fines décroît avec la profondeur et augmente avec l'âge des peuplements dans l'horizon supérieur (LACLAU *et al.*, 2001 ; BOUILLET *et al.*, 2002). Ces effets pourraient, au moins en partie, expliquer la tendance à la diminution de  $\delta^{15}\text{N}$  observée dans notre étude dans le cas du traitement témoin.

La divergence du signal  $\delta^{15}\text{N}$  observée entre traitements témoin et fertilisés avec N (valeurs plus élevées de  $\delta^{15}\text{N}$ ) à partir de la fertilisation peut être attribuée à la source additionnelle de N (nitrate d'ammonium, valeurs typiquement proches de 0‰) avec une  $\delta^{15}\text{N}$  plus élevée que le niveau naturel dans le sol.  $\delta^{15}\text{N}$  était aussi supérieur d'environ 1‰ dans les cernes du traitement N par rapport au traitement NPKCa. Cette différence pourrait résulter de modifications de transformations microbiennes du sol et/ou de modifications physiques et chimiques du sol. Les écosystèmes soumis à des dépôts azotés intenses sont caractérisés par des pertes élevées de N (ABER *et al.*, 1998 ; MACDONALD *et al.*, 2002) et le N restant dans le sol s'enrichit en  $\delta^{15}\text{N}$  soit par perte de composés azotés appauvris en  $\delta^{15}\text{N}$  du fait de la nitrification, dénitrification et volatilisation de  $\text{NH}_3$ , soit par le lessivage des nitrates (HANDLEY et RAVEN, 1992).

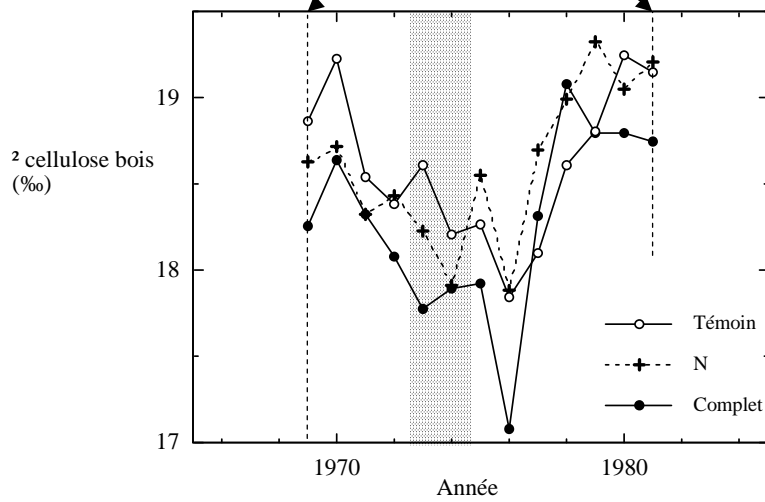
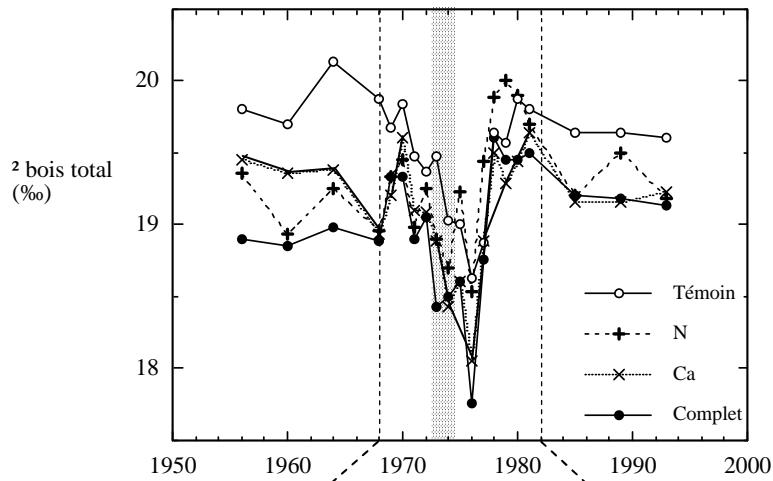
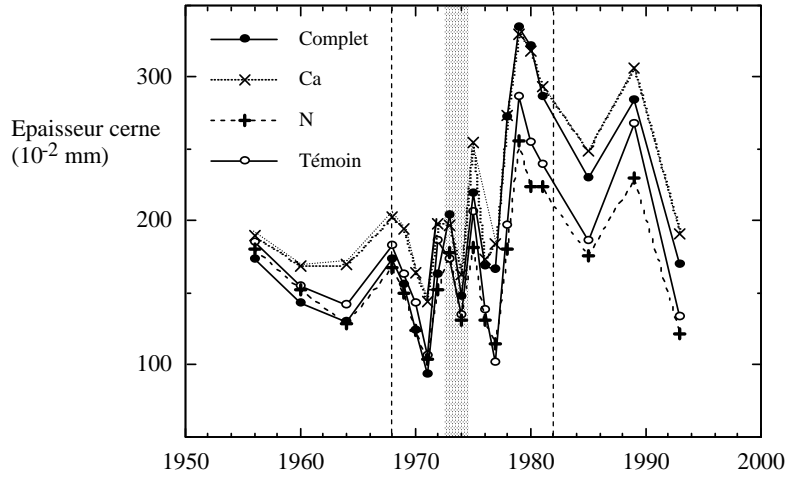


**Figure 5.** Composition isotopique en azote ( $\delta^{15}\text{N}$ ) du bois total (haut) et du bois après extraction de la fraction azotée mobile (bas) dans les cernes annuels successifs. La zone en pointillé correspond à la période d'apports de fertilisants (1973-1974). La procédure d'extraction n'a été appliquée que pour une période réduite avant et après fertilisation (1969-1981).

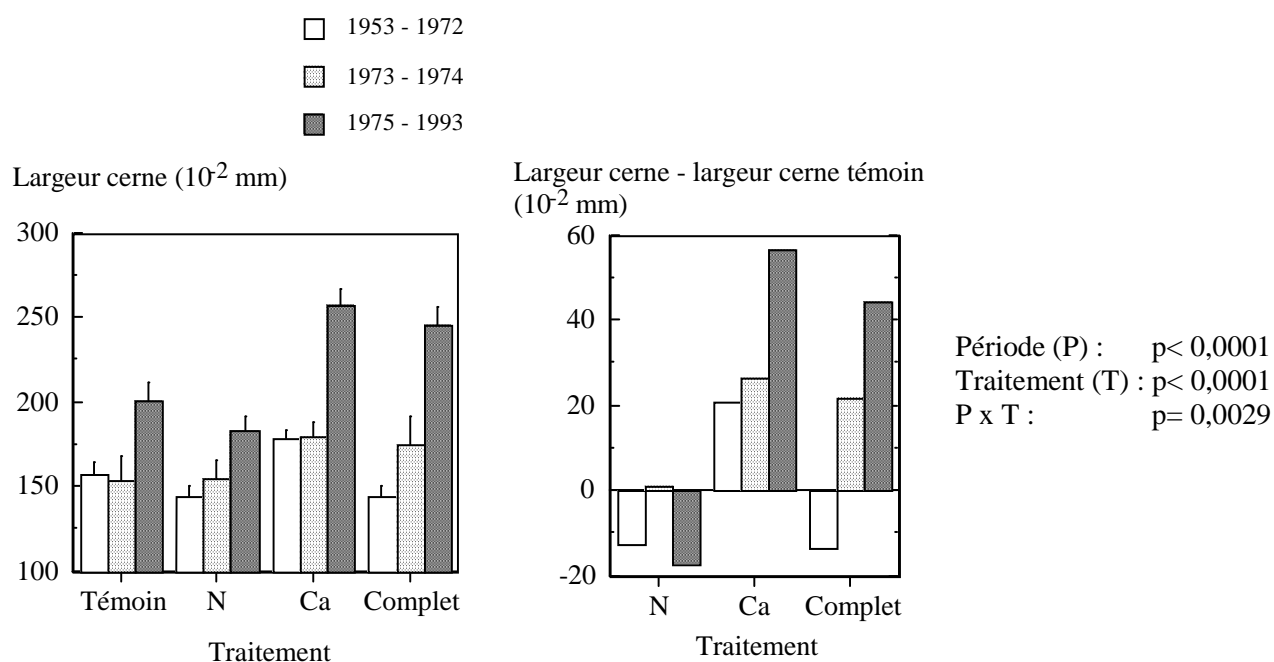




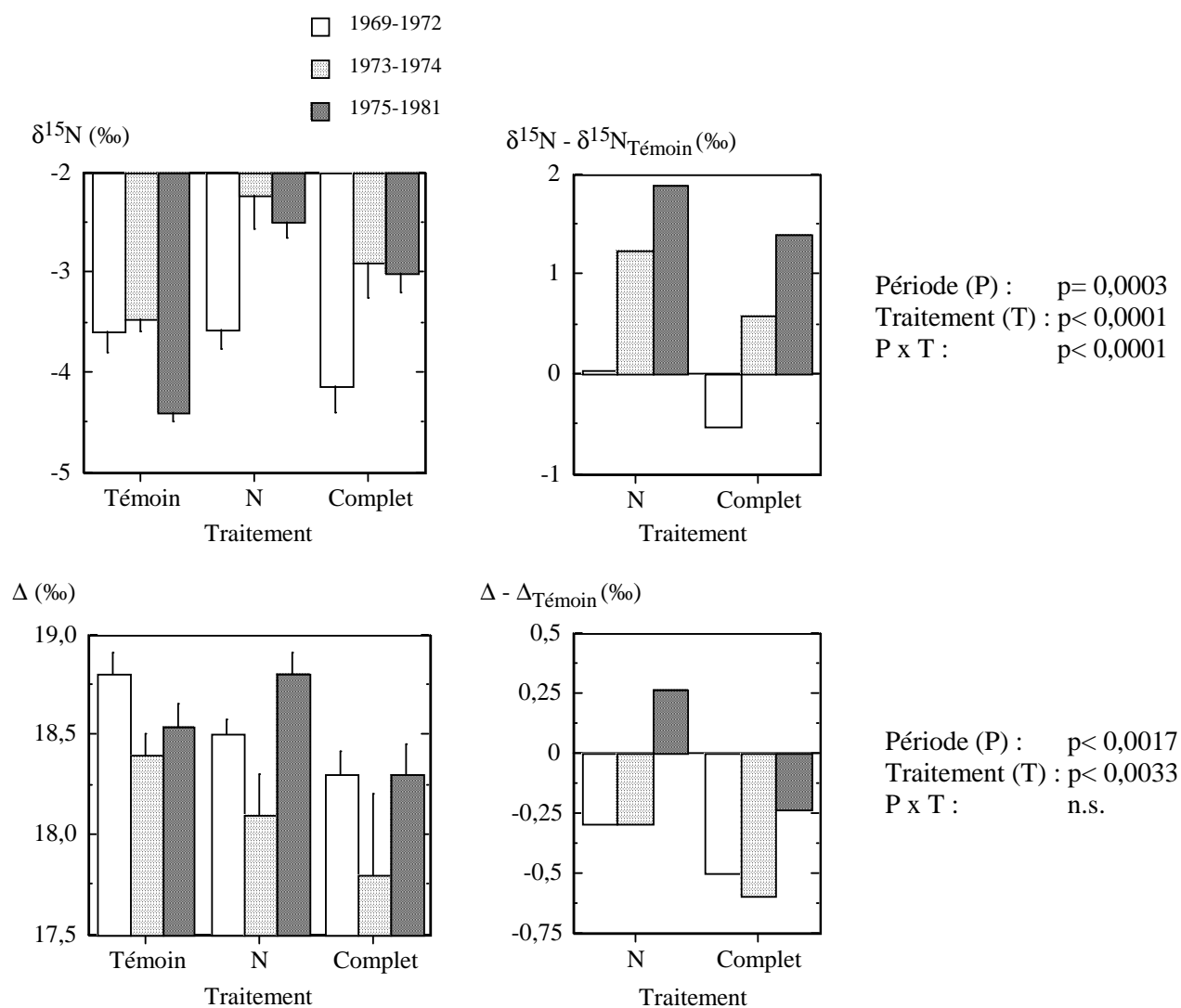
**Figure 6.** Relations entre (*haut*) la discrimination isotopique en carbone ( $\Delta$ ) pour la fraction cellulose du bois et la bois total et (*bas*) la composition isotopique en azote ( $\delta^{15}\text{N}$ ) de la fraction azotée résiduelle après extraction des composés mobiles et le  $\delta^{15}\text{N}$  du bois total. Chaque point correspond à un cerne annuel (données correspondant aux figures 5 et 7 pour la période 1969-1981). Les droites en pointillé correspondent à la première bissectrice.



**Figure 7.** Largeur des cernes (*haut*) et discrimination isotopique du carbone ( $\square$ ) du bois total (*milieu*) et de fraction cellulose du bois (*bas*) dans les cernes annuels successifs. La zone en pointillé correspond à la période d'apports de fertilisants (1973-1974). La procédure d'extraction de cellulose n'a été appliquée que pour une période réduite avant et après fertilisation (1969-1981).



**Figure 8.** (Gauche) Largeur des cernes (valeurs moyennes  $\pm$  ES) pour les différentes périodes avant (1953–1972), pendant (1973–1974) et après (1975-1993) l'application de la fertilisation. (Centre) Différences entre la largeur moyenne des cernes dans un traitement donné et la valeur moyenne correspondant à la même période pour le traitement témoin. (Droite) Résultats ANOVA à deux facteurs concernant la largeur des cernes.



**Figure 9.** (Gauche) Composition isotopique en azote du bois après extraction ( $\delta^{15}N$ ) et discrimination isotopique en carbone de la cellulose du bois ( $\Delta$ ) (valeurs moyennes  $\pm$  ES) pour les différentes périodes avant (1969–1972), pendant (1973–1974) et après (1975–1981) l’application de la fertilisation. (Centre) Différences entre valeurs isotopiques dans un traitement donné et la valeur moyenne correspondant à la même période pour le traitement témoin. (Droite) Résultats ANOVA à deux facteurs concernant  $\delta^{15}N$  et  $\Delta$ .

### ■ *L'effet de la fertilisation sur $\Delta$ et sur croissance en diamètre.*

La fertilisation a été réalisée au cours de la décennie 70 marquée par cycle de sécheresse sévère (maximum en 76). Cela se traduit ici par une décroissance très nette à la fois des largeurs de cerne et de la discrimination isotopique du carbone, suivie d'un retour vers des valeurs plus élevées en fin de cette décennie. On constate pour les valeurs de largeur des cernes et pour  $\Delta$ , l'existence de différences importantes entre les différents traitements, même avant leur application. Contrairement au cas du  $\delta^{15}\text{N}$ , ces différences avant fertilisation sont maintenues pour les valeurs de  $\Delta$  obtenues sur la cellulose du bois et ne peuvent donc pas être imputées à un transfert entre cernes de composés de réserves carbonées. En raison du type d'échantillonnage réalisé ici (regroupement des carottes entre arbres à l'intérieur des placettes élémentaires) il ne nous est pas possible d'interpréter ce résultat de façon très satisfaisante. Le rôle de l'hétérogénéité du terrain n'est pas à exclure.

Malgré l'existence d'effets avant fertilisation, nous avons noté une divergence très nette entre traitements consécutivement à la fertilisation, s'exprimant à la fois par des différences entre traitements fertilisés et témoins et par des différences entre les différents types de fertilisation (voir analyses figures 8 et 9). Le traitement fertilisation 'complète' (ainsi que le traitement Ca non analysé pour les isotopes) a induit une augmentation de la largeur des cernes par rapport au témoin (figure 8), cependant que dans le cas du traitement N une telle stimulation n'était pas observée. Il est remarquable d'observer également que le traitement N a induit une divergence positive de  $\Delta$  par rapport au témoin (figure 9 bas), traduisant une diminution de l'efficacité d'utilisation de l'eau. Dans le cas de la fertilisation complète une telle divergence n'était pas observée.

### ■ *Conclusions*

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude confirment bien l'intérêt de l'approche  $\delta^{15}\text{N}$  dans les cernes du bois comme outil d'analyse rétrospective des conditions environnementales. Nous avons pu mettre à profit l'expérimentation de fertilisation à Fougères, ayant produit un marquage isotopique net, mais restant proche des conditions naturelles, pour montrer la grande résolution temporelle de l'approche  $\delta^{15}\text{N}$ . On ne peut cependant s'affranchir de l'étape d'extraction des composés azotés mobiles.

Les résultats font ressortir également l'intérêt de coupler l'approche  $\delta^{13}\text{C}$  (ainsi que la largeur des cernes) avec l'approche  $\delta^{15}\text{N}$ . Il devient alors possible d'évaluer également les impacts des modifications environnementales sur le fonctionnement des arbres.

## 5 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les travaux menés dans le cadre de ce projet ont débouché sur des résultats originaux concernant l'utilisation des signatures isotopiques  $^{15}\text{N}$  en dendro-écologie.

- L'expérimentation avec marquage artificiel montre qu'aucune des deux procédures d'extraction utilisées (méthode SHEPPARD ET THOMPSON et méthode 'Milled wood lignin' n'ont permis d'isoler de façon parfaite une fraction azotée 'immobile' liée aux structures pariétales ainsi que nous en avons fait l'hypothèse.
- Ce résultat pourrait être en partie lié à la particularité anatomique du bois de hêtre avec une large proportion de tissus vivants (absence de duramen) favorisant la mobilité de N. Il serait intéressant d'analyser d'autres espèces ne présentant pas cette particularité (chênes...).
- En dépit de cet effet de 'dilution' de N, la fraction azotée résiduelle, après extraction, des cernes est très majoritairement constituée par l'azote récemment acquis restant stable, de sorte que la résolution temporelle du signal  $^{15}\text{N}$  entre cernes paraît appropriée par rapport à la mise en évidence de variations dans le temps.
- Les résultats de l'expérimentation 'fertilisation', impliquant des marquages  $^{15}\text{N}$  faibles, confirment bien cette possibilité à travers la mise en évidence de la divergence en  $^{15}\text{N}$  entre traitements apparaissant de façon très tranchée dès l'application des traitements.
- L'utilisation conjointe de différents isotopes ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  et probablement aussi  $^{18}\text{O}$ ) en association avec la dendrochimie classique s'avère potentiellement très pertinente pour l'interprétation causale environnementale des évolutions de productivité forestière.
- Il est possible maintenant de passer à la phase réellement opérationnelle concernant l'utilisation des isotopes stables comme indicateurs environnementaux dendro-écologiques. Nous nous attachons à rechercher les moyens et situations permettant d'aborder cette phase avec la considération de gradients géographiques dans le cadre de réseaux d'observations à grande échelle au niveau européen et en considérant une ou deux espèces majeures de grande amplitude géographique. Dans une perspective plus à long terme, il nous paraît nécessaire d'intégrer également une dimension modélisatrice et de simulation dans une telle approche. Une telle approche, devant nécessairement être de nature inter-disciplinaire, devra intégrer la variabilité géographique des dépôts azotés atmosphériques et du climat ainsi qu'une modélisation fonctionnelle (nécessairement simplifiée au départ) du cycle de l'azote à l'échelle de l'arbre et de l'écosystème.

## 6. PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

1. ELHANI S, FERNANDEZ LEMA B, ZELLER B, BRECHET C, GUEHL JM, DUPOUEY JL. 2003. Inter-annual resolution of  $\delta^{15}\text{N}$  in beech rings: a labelling experiment. *Annals of Forest Science* 60 : 1-6.
2. A dual tree ring isotope analysis ( $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$ ) in fertilised beech stands. Article sur données de Fougères en préparation. (Tree Physiology).
3. ELHANI S, FERNANDEZ LEMA B, ZELLER B, BRECHET C, GUEHL JM, DUPOUEY JL. 2002. Can nitrogen in tree rings be used as an indicator of environmental change ? *Netcarb Summer School*, Oeiras, Portugal, July 1-5. (Poster, résumé).
4. ELHANI S, GUEHL JM, DUPOUEY JL. 2003.  $\delta^{15}\text{N}$  and N-concentration of pre-treated wood reflect environmental signals. *Netcarb Summer School*, Freising, Germany, June 2-6. (Poster, résumé).
5. GUEHL JM. 2002. Isotopic analyses in tree rings. Link to climate change and interannual variability of growth. *Cours NETCARB Second Summer School lisbon*, 1-5 Juillet.
6. GUEHL J.M., BADEAU V., DUPOUEY J.L. (2004) Impacts du changement climatique sur les forêts. Actes Réunion INRA 'Changements Climatiques', SEGUIN B. ed., 4p.

## REFERENCES

- ABER, J., W. MCDOWELL, K. NADELHOFFER, A. MAGILL, G. BERNTSON, M. KAMAKEYA, S. MCNULTY, W. CURRIE, L. RUSTAD AND I. FERNANDEZ (1998) Nitrogen saturation in temperate forest ecosystems. *Bioscience* 48:921-934.
- AMMANN, M., SIEGWOLF, R., PICHLMAYER, M., SUTER, M., SAURER, M., BRUNOLD, C., (1999) Estimating the uptake of traffic derived NO<sub>2</sub> from <sup>15</sup>N abundance in Norway spruce needles. *Oecologia*, 118, 124-131.
- BERT, D., LEAVITT, S.W. & DUPOUEY, J-L., (1997) Variations of wood δ<sup>13</sup>C and water-use efficiency of *Abies alba* during the last century. *Ecology* 78, 1588-1596.
- BOUILLET, J.P., J.P. LACLAU, M. ARNAUD, A. THONGO M'BOUC, L. SAINT-ANDRÉ, C. JOURDAN (2002) Changes with age in the spatial distribution of roots of Eucalyptus clone in Congo. Impact on water and nutrient uptake. *Forest Ecology and Management* 171:43-57.
- DILL I., SALNIKOW J., KRAEPELIN G., (1984) Hydroxyproline-rich protein material in wood and lignin of *Fagus sylvatica*. *Appl. Environ. Microbiol.* 48:1259-1261.
- DUPOUEY, J.L., S. LEAVITT, E. CHOISNEL, AND S. JOURDAIN, (1993) Modeling of carbon isotope fractionation in tree rings based on evapotranspiration and soil water status. *Plant Cell Environ.* 16: 939–947.
- DUQUESNAY A., BRED A., STIEVENARD M., DUPOUEY J.L., (1998) Changes of tree-ring δ<sup>13</sup>C and water-use efficiency of beech (*Fagus sylvatica* L.) in north-eastern France during the past century. *Plant, Cell and Environment* 21: 565-572.
- FARQUHAR, G.D., M.H. O'LEARY, AND J.A. BERRY, (1982) On the relationship between carbon isotope discrimination and intercellular carbon dioxide concentration in the leaves. *Aust. J. Plant Physiol.* 9:121-137.
- HANDLEY, L.L., J.H. RAVEN (1992) The use of natural abundance of nitrogen isotopes in plant physiology and ecology: commissioned review. *Plant Cell Environ.* 15:965-985.
- HÖGBERG P., (1997) <sup>15</sup>N natural abundance in soil-plant systems. *New Phytol* 137 : 179-203.
- KOHZU, A., K. MATSUI, T. YAMADA, A. SUGIMOTO, AND N. FUJITA. (2003). Significance of rooting depth in mire plants: Evidence from natural <sup>15</sup>N abundance. *Ecological Research* 18:257-266.
- LACLAU, J.P., M. ARNAUD, J.P. BOUILLET AND J. RANGER. (2001) Spatial distribution of Eucalyptus roots in a deep sandy soil in the Congo: relationships with the ability of the stand to take up water and nutrients. *Tree Physiology* 21:129-136.
- LEAVITT S.W., DANZER S.R., (1993) A method for the batch processing of small wood samples to holocellulose for stable carbon isotope analysis. *Analytical Chemistry*, 65 1: 87-89.



- MACDONALD, J.A., N.B. DISE, E. MATZNER, M. ARMBRUSTER, P. GUNDERSEN AND M. FORSIUS (2002) Nitrogen input together with ecosystem nitrogen enrichment predict nitrate leaching from European forests. *Global Change Biology* 8:1028-1033.
- MARIOTTI, A., D. PIERRE, J.C. VEDY, S. BRUCKERT AND J. GUILLEMOT (1980) The abundance of natural Nitrogen 15 in the organic matter of soils along an altitudinal gradient (Chablais, Haute Savoie, France). *Catena* 7:293–300.
- NADELHOFFER, K.J. AND B. FRY (1988). Controls on natural Nitrogen-15 and Carbon-13 abundances in forest soil organic matter. *Soil Sci. Soc. of Am. J.* 52:1633-1640.
- PEÑUELAS, J. AND M. ESTIARTE (1997) Trends in plant carbon concentration and plant demand for N throughout this Century. *Oecologia* 109:69–73.
- POULSON S.R., CHAMBERLAIN C.P., FRIEDLAND A.J., (1995) Nitrogen isotope variation of tree rings as a potential indicator of environmental change, *Chemical Geology* 125 307–315.
- SAURER, M., P. CHERUBINI, M. AMMANN, B. DE CINTI AND R. SIEGWOLF (2004) First detection of nitrogen from NO<sub>x</sub> in tree rings: a <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N study near a motorway. *Atmospheric Environment* 38(18):2779-2787.
- SAUTER J.J., VAN CLEVE B., (1990) Biochemical, immunochemical and ultrastructural studies of protein storage in poplar (*Populus x canadensis*'robusta') wood. *Planta* 183 : 92-100.
- SHEARER, G.B., D.H. KOHL AND S.H. CHIEN (1978) The nitrogen-15 abundance in a wide variety of soils: *Soil Sci. Soc. of Am. Jour.* 42:899-902.
- SHEPPARD P.R., THOMPSON T.L., (2000) Effect of extraction pre-treatment on radial variation of nitrogen concentration in tree rings. *Journal of Environmental Quality* 29 2037-2042.
- ULRICH, E., M. LANIER AND D. COMBES. (1998) Dépôts atmosphériques, concentrations dans les brouillards et dans les solutions du sol (sous-réseau CATAENAT) - Rapport scientifique sur les années 1993 à 1996. Editeur: Office National des Forêts, Département des Recherches Techniques, ISBN 2-84207-134-4, 135 p.
- ZELLER B., COLIN-BELGRAND M., DAMBRINE E., MARTIN F., (1998) <sup>15</sup>N partitioning and production of <sup>15</sup>N-labelled litter in beech trees following [<sup>15</sup>N] urea spray, *Ann. Sci. For.* 55 375–383.

## 7 ET 8. DISPONIBILITE DES DONNEES ET VALORISATION SUR SITE INTERNET.

L'ensemble des données acquises dans ce projet ont été publiés ou sont en voie de publication. Les données de base figurent intégralement dans les articles 1 et 2 de la liste de publications.

Site GICC :

- La Figure 5 (bas) représentant l'évolution divergente de  $\delta^{15}\text{N}$  dans les cernes après extraction dans les différents traitements expérimentaux est un résultat original illustrant bien l'intérêt de l'approche  $\delta^{15}\text{N}$  comme outil en dendroécologie. Seule une étude faite par des collègues suisses (SAURER *et al.*) donne de façon moins claire cependant, une telle information. Nous sommes en contact régulier avec ce groupe.
- La figure 6 du haut fournit, dans le cas du hêtre, des données d'une relation dont on s'attache à évaluer la généralité (dépendante de l'espèce considérée ou non).