HAL
open science

LES ZONES HUMIDES DE FONDS DE VALLEE ET LA REGULATION DES POLLUTIONS AZOTEES DIFFUSES

Jean-Christophe Clement

To cite this version:

Jean-Christophe Clement. LES ZONES HUMIDES DE FONDS DE VALLEE ET LA REGULATION DES POLLUTIONS AZOTEES DIFFUSES. Sciences de l'environnement. Université de Rennes 1, 2001. Français. NNT : . tel-01685466

HAL Id: tel-01685466

https://hal.science/tel-01685466v1

Submitted on 16 Jan 2018

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° Ordre : 2450

THESE

Présentée

DEVANT L'UNIVERSITE DE RENNES 1

Pour obtenir

Le grade de : DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE RENNES 1

Mention : BIOLOGIE

PAR

Jean – Christophe CLEMENT

Equipe d'accueil : U.M.R. 6553 "ECOBIO", Equipe Interactions Biologiques et Transferts de Matières
Ecole doctorale : Vie–Agro–Santé
Composante universitaire : U.F.R. Science de la Vie et Environnement

TITRE DE LA THESE

LES ZONES HUMIDES DE FONDS DE VALLEE ET LA REGULATION DES POLLUTIONS AZOTEES DIFFUSES

SOUTENUE LE 30 mars 2001 devant la commission d'Examen

COMPOSITION DU JURY :

Timothy BURT	Professeur – University of Durham UK	Rapporteur
Robert Max HOLMES	Staff Scientist- Marine Biological Laboratory USA	Examinateur
Robert LENSI	Directeur de recherche C.N.R.S. – Lyon 1	Rapporteur
Pierre MARMONIER	Professeur – Université de Rennes 1	Président
Philippe MEROT	Directeur de recherche I.N.R.A. – Rennes	Examinateur
Gilles PINAY	Directeur de recherches C.N.R.S. – Rennes 1	Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Ouf! Je peux enfin écrire cette page…cela veut donc dire que tout le reste de ce manuscrit est écrit et prêt à être lu par les courageux. En attendant je ne peux pas terminer ces 3 années sans remercier celles et ceux qui m'ont aidé.

En premier lieu je tiens à remercier chaleureusement mon directeur de thèse, Gilles Pinay, qui m'a fait confiance et dont l'encadrement fut d'une qualité irréprochable, que ce soit au niveau scientifique ou humain. Grâce à lui, j'ai découvert bien des aspects encourageants de la recherche, les collaborations nationales et internationales, les voyages et les bonnes bouffes. Mais aussi, l'écriture de manuscrits, la participation à un programme européen et bien d'autres choses encore. Bref, il a été présent tout en me laissant la liberté de suivre mes aspirations, et pour tout cela je lui en suis très reconnaissant. Je voudrais aussi remercie Zaffreen, l'épouse de Gilles, pour sa gentillesse et ses bons petits plats, il faut dire que l'on est bien reçu chez les Pinay ;-)

Comment ne pas remercier Bob Holmes, le roi du basket américain et amateur de la table française, qui m'a enseigné une technique expérimentale précieuse et qui m'a accueilli chez lui pour écrire un article et me faire découvrir Cap Cod…pendant 15 jours en plus…quel homme courageux n'est-ce pas? ;-) Merci aussi à Gaby, son épouse, qui m'a très bien reçu et qui, en plus, m'a fait découvrir qu'une américaine savait faire une très bonne cuisine…incroyable mais vrai!

Merci à Pierre Marmonier, d'abord de m'avoir évité de faire passer mon bureau par la fenêtre un certain jour de retour d'article… c'était à 2 doigts… et merci bien sûr d'accepter d'être dans mon jury de thèse…en espérant qu'il ne rira pas trop…

Merci aussi à Tim Burt, Philippe Mérot et Robert Lensi qui me font l'honneur de participer à mon jury de thèse.

Comment ne pas remercier aussi l'ensemble du laboratoire, personnels et étudiants, pour tous les coups de main que les uns et les autres ont pu me donner. J'espère ne pas avoir été trop dur à vivre et qu'ils garderont un bon souvenir de mon passage.

Merci à Luc, Olivier, Gérard et Kristelle de Géoscience pour leur aide précieuse dans la partie hydro de ce travail.

Je voudrais aussi remercier ma famille, pour ces encouragements dans des moments de baisse de motivation…si si ça arrive! Ils ont toujours été là et je sais qu'ils le seront encore. Une fois n'est pas coutume, je tiens aussi à féliciter quelqu'un: Bravo à ma sœur Karine pour son courage et sa soif de vivre…c'est une belle leçon pour notre petit monde de la Science dans lequel nous nous inquiétons parfois un peu trop de choses bien futiles... moi le premier. Merci aussi à Gwenn qui m'accompagne depuis un certain temps et qui m'a souvent fait relativiser mes ennuis de thésard.

Enfin, une mention particulière à tous mes amis européens, Mariet Hefting, David Dowrick, Martin Blackwell, Chris Baker, Roxana, Mihaela, Sergi Sabater, Andrea Butturini, Florian, Susana, Serban, Virginie, Nick…il en manque beaucoup, mais merci à tous pour les échanges, les coups de main, les discussions et l'enrichissement personnel que j'en ai retiré.

Voilà c'est fini, alors en guise de conclusion, je dédicace ce manuscrit à tous ceux qui auront le courage de tourner les pages qui suivent, ne soyez pas inquiet c'est facile à lire…la preuve? …J'ai réussi à l'écrire. ;-)

CADRE SCIENTIFIQUE DE LA THESE:

Cette thèse a fait partie intégrante du Programme Européen de Recherche N.I.C.O.L.A.S. (Nitrogen Control by Landscape Structures in Agricultural Environments – DGXII – ENV4-CT97-0395) qui avait pour but d'évaluer, le long d'un gradient climatique, l'évolution les capacités tampons des zones humides riveraines naturelles face aux pollutions azotées diffuses d'origine agricole qui rejoignent les eaux de surface.

NICOLAS

http://www.qest.demon.co.uk/nicolas/nicolas.htm

Au moins deux types de zones humides riveraines (une Prairie et un site Forestier) furent sélectionnés dans chacun des huit pays participant (Espagne, France, Italie, Pays-Bas, Pologne, Roumanie, Royaume-Uni, et Suisse). Des mesures quantitatives des flux d'azote et des processus de rétention ont été effectuées selon les mêmes protocoles pour tous les sites d'études. Une version européenne du modèle de gestion des écosystèmes riverains (REMM – Riparian Ecosystem Management Model) est ensuite développée à partir des données recueillies, et devrait permettre de prédire les capacités tampons d'une zone humide sous différentes conditions climatiques et de tester les conséquences de divers scénarios d'aménagement du paysage. Enfin, d'autres structures du paysage potentiellement capable de contrôler les flux d'azote (haies, potholes…) ont été comparés aux zones humides étudiées.

Background

The loss of nitrogen compounds from agricultural environments is particularly severe within Europe. When excessive nitrogen enters freshwater environments, the functioning of the aquatic ecosystem and their associated biodiversity are adversely affected. Controlling nitrogen losses and thereby protecting both fresh and marine waters is an important objective within Europe.

The NICOLAS project focuses on one valuable technique to control diffuse nitrogen losses. It examines the use of landscape structures which can intercept nitrogen compounds and either retain or transform them, so filtering the water before it enters a freshwater ecosystem. These "buffer" landscape features have been researched globally but critical questions remain which, if not answered, limit the use of this technique within Europe. This project will address these questions in the framework of four objectives. A European version of the riparian ecosystem management model (REMM) will be developed to predict the competence of riparian landscape structures to control nitrogen fluxes under varying climatic conditions.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE p 1
I - Le Contexte - L'intensification de l'Agriculture et ses Conséquences p 1
II - Les Zones Humides de Bas –Fonds p 2
III - Le Cycle de l'Azote dans les Zones Humides de Bas-Fonds p 2
A – Capacités tampons et Zones Humides de Fonds de Vallée – Les Bases p 2
B - Une Forte Production Primaire p 5
C - Le Sol et la Dénitrification p 6
D – La Dénitrification et son Rôle p 7
1 – Définition p 7
2 – Facteurs Proximaux de la Dénitrification p 8
3 – Facteurs Distaux de la Dénitrification p 10
4 – Quelques Chiffres p 12
IV – VEGETATION RIVERAINE ET DENITRIFICATION p 13
V - POSITION DES RIPISYLVES DANS LE BASSIN VERSANT p 14
VI – LA NOTION DE ZONE ACTIVE P 16
VII – TYPE DE VEGETATION P 18

HYPOTHESES DE RECHERCHE P 19

STUDY SITES AND THE EQUIPMENTS P 20
I - Geographical localization: P 20
II – Human activities on the watershed: P 22
III - Geological characteristics of the watershed: P 22
IV – General description of the study sites P 22
V – Equipments: P 24
VI – Floristic characterization of the study sites: P 30
VII – Pedology of the study sites: P 33

METHODS P 34
I - HYDROLOGY: P 34
II - WATER ANALYSIS: P 35
III – SOIL ANALYSES: P 37
IV – VEGETATION: P 47
A - Plant productivity in the Meadow and the Shrub: P 47
B - Plant productivity in the Forested site: P 49
C - Measurements of annual wood production P 50
D - Determination of decomposition using the litter bag method P 51
V – ^{15}N NATURAL ABUNDANCE P 56

CHAPITRE I P 57
Hydrological Patterns and Functioning Investigations within Riparian Wetlands
INTRODUCTION P 58
MATERIALS AND METHODS P 60
RESULTS p 63
DISCUSSION p 73
CONCLUSION p 81

SYNTHESE P 82

CHAPITRE II p 86
Three-Dimensional and Seasonal Dynamics of denitrification along catenas in three riparian wetlands with different vegetation cover.

ABSTRACT P 87
INTRODUCTION P 88
MATERIALS & METHODS P 89
RESULTS P 92
DISCUSSION P 103
CONCLUSION P 106
APPENDIX 1 P 107

SYNTHESE P 108

CHAPITRE III p 114
Isotopic Investigation of Denitrification in a Riparian Ecosystem in Northwest France

ABSTRACT P 115
INTRODUCTION P 116
METHODS P 119
RESULTS P 122
DISCUSSION P 130
CONCLUSION P 133

SYNTHESE P 134

CHAPITRE IV – LA VEGETATION p 136
INTRODUCTION P 136
RESULTATS P 138
I – Production et Biomasse: p 138
I - 1 – Comparaison de l'évolution de la biomasse sur les 3 sites d'étude: p 138
I - 2 – La Production de biomasse sur les 3 sites d'étude: p 140
I - 3 – La Production de Litière sur les 3 sites d'étude: p 141
I - 4 – L'assimilation de l'Azote sur les 3 sites d'étude: p 142
II – Translocation et Décomposition: p 143
II - 1 – La Translocation: p 143
II – 2 – Rapports C:N de la végétation et de la litière: p 144
II – 3 – La Décomposition: p 145
III – Décomposition des racines: p 150
DISCUSSION P 152
CONCLUSION P 156

SYNTHESIS P 158

CONCLUSION GENERALE P 160

BIBLIOGRAPHIE P 167

Les Zones Humides de Fonds de Vallée et la Régulation des Pollutions Azotées Diffuses.

INTRODUCTION GENERALE

I - LE CONTEXTE - L'INTENSIFICATION DE L'AGRICULTURE ET SES CONSEQUENCES

L'objectif majeur et légitime de la Politique Agricole Commune des années 60-70 était d'assurer l'autonomie alimentaire du marché commun en augmentant la compétitivité du secteur agricole et en assurant le revenu des agriculteurs. A la même époque, l'industrialisation nécessita de la main d'œuvre dont une grande majorité provenait du monde rural. Face à ces objectifs de production et à ces contraintes de ressources humaines, l'intensification de l'agriculture fut une réponse efficace. Les fertilisants chimiques, les produits phytosanitaires, la mécanisation et l'homogénéisation des systèmes de cultures et d'élevages, ont effectivement permis d'obtenir rapidement une croissance spectaculaire. L'agriculture est ainsi devenue l'un des premiers secteurs économiques français dont la Bretagne est l'une des régions leaders.

Cependant la surproduction a rapidement fait son apparition et, malgré le soutien des prix par l'Union Européenne, l'agriculture européenne en général, et française en particulier, est entrée dans une crise sans précédent. Désormais à cette dimension économique et sociale se surimpose une dimension environnementale qui oblige définitivement l'agriculture à remettre ces pratiques en question.

En effet, l'intensification agricole a eut pour conséquence d'augmenter considérablement les flux de polluants (Nitrate, Phosphate, Pesticides, Métaux lourds…) sur l'ensemble des bassins versants agricoles. Le remembrement, le drainage, l'utilisation de produits de traitements des cultures, l'apport d'engrais, les capacités limitées des cultures à absorber ces nutriments et l'existence de terres nues en hiver sont autant de facteurs qui favorisent l'exportation des intrants excédentaires vers le milieu aquatique. A titre d'exemple, la fixation d'azote par l'industrie des engrais excède aujourd'hui toutes les entrées naturelles d'azote dans la biosphère (Vitousek 1994, Galloway *et al.* 1995).

Durant ces dernières années, la pollution des eaux de surface et de subsurface, par les nitrates d'origine agricole, a souvent été relié aux phénomènes d'eutrophisations, à la dégradation de la qualité de l'eau et même à certaines maladies ("sang bleu" chez le nourrisson, maladie digestives…). Plusieurs stratégies ont été testées pour résoudre ces problèmes, la plus préférable consistant à faire de la prévention plutôt que de la dépollution. Diverses solutions ont été préconisées au travers des politiques nationales ou européennes (directive "Nitrate" 1991). Entre autre, une récente proposition visait à utiliser les zones humides dites "tampons", situées entre le cours d'eau et les parcelles agricoles, pour éliminer les nitrates de l'eau qui y transitait.

II - LES ZONES HUMIDES DE BAS –FONDS

C'est dans ce contexte qu'il a été montré, il y a une vingtaine d'années, que les zones humides, et les ripisylves en particuliers, présentaient de réelles potentialités de régulation des pollutions azotées diffuses provenant des nappes phréatiques ou des flux superficiels des bassins versants (Lowrance *et al.* 1984a, Peterjohn & Correll 1984, Pinay & Décamps 1988, Cooper 1990, Groffman *et al.* 1992, Simmons *et al.* 1992, Haycock & Pinay 1993, Jordan *et al.* 1993, Pinay *et al.* 1993, Lowrance *et al.* 1995, Hill 1996, Hedin *et al.* 1998). Ces recherches ont suscité un regain d'intérêt pour les ripisylves. En effet, beaucoup ont cru voir dans les premiers résultats obtenus un remède miracle aux problèmes de pollutions diffuses à partir d'un espace minimum, sans pour autant remettre en question l'utilisation intensive des bassins versants agricoles (Knowles 1981a, Pinay *et al.* 2001).

Le concept de "zone tampon" s'est alors imposé, transformant toute zone humide en système de régulation entre les milieux terrestres et les milieux aquatiques. Ainsi, un grand nombre d'expériences d'utilisations des zones riveraines pour limiter l'exportation massive d'azote depuis les bassins versants agricoles vers les cours d'eau ont été réalisées avec plus ou moins de succès. Les aménageurs ont en effet cherchés des solutions palliatives et peu coûteuses face à l'augmentation régulière des pollutions azotées dans les nappes phréatiques et les cours d'eau. Ils se sont alors tournés vers ce qui n'était qu'une hypothèse de recherche au début des années 80, à savoir les capacités tampons des ripisylves vis à vis des pollutions azotées diffuses. Cette hypothèse ne s'appuyait en fait que sur un nombre limité d'études de terrain peu représentatives et non extrapolables, faisant souvent référence à des potentialités plutôt qu'à des mesures *in situ* (ou réelles) de capacité de rétention. En résumé, la méconnaissance du fonctionnement de ces zones humides et de leurs facteurs de variabilité fut le plus souvent à l'origine de ces échecs.

Il restait donc à préciser les capacités *in situ* de régulation des zones riveraines vis à vis de l'azote transporté par les eaux de surface ou souterraines, ainsi que les processus biotiques et/ou les caractéristiques physiques à la base de cette régulation et les facteurs les influençant à l'échelle de la ripisylve.

Dans la suite de cette introduction je me propose donc de présenter l'état des connaissances et des lacunes concernant les différentes caractéristiques de la régulation des pollutions azotées diffuses dans les zones humides de fonds de vallée, puis d'en dégager les objectifs des travaux menés lors de cette thèse.

III - LE CYCLE DE L'AZOTE DANS LES ZONES HUMIDES DE BAS-FONDS

A – Capacités tampons et Zones Humides de Fonds de Vallée – Les Bases:

Pour mieux appréhender le rôle d'une zone humide de bas-fonds par rapport aux pollutions azotées diffuses provenant des excédants d'azote appliqués sur les parcelles agricoles, il est nécessaire de rappeler les différents "circuits" qui mobilisent l'azote dans un tel écosystème.

Au cours de leur transfert amont-aval, les éléments transportés par les réseaux hydrographiques, principalement azote et phosphore, se retrouvent alternativement sous une forme organique et sous une forme minérale dans une sorte de flux en hélice (Newbold *et al.* 1981). Les zones riveraines inondables participent à ce fonctionnement d'une part en contrôlant physiquement les crues, en retenant notamment les sédiments (Schlosser & Karr 1981), et d'autre part en assurant le recyclage des nutriments provenant des nappes phréatiques et du ruissellement superficiel depuis le bassin versant (Peterson & Rolfe 1982). En 1984 et 1985, divers travaux ont souligné le rôle tampon de la végétation riveraine vis-à-

vis des apports diffus de nitrates provenant tant des nappes phréatiques que des flux superficiels issus des bassins versants (Brinson *et al.* 1984, Peterjohn & Correll 1984, Jacobs & Gilliam 1985).

Classiquement, les capacités d'épuration des zones humides de bas-fonds sont le fait de deux processus majeurs (Figure 1) : d'une part l'absorption racinaire par la végétation et l'absorption microbienne, systèmes de rétention temporaire, et d'autre part la dénitrification microbiologique. Cette dernière réduit les oxydes d'azote (NO_3^-, NO_2^-) en produits gazeux (NO, N_2O, N_2) et permet ainsi une élimination définitive de l'azote des sols et des eaux (Knowles 1982). Ces activités biologiques sont elles-même liées à des conditions physiques particulières, texture des sols et engorgement notamment, qui jouent sur le cycle de l'azote dans ces milieux d'interface. Ainsi, les processus en jeu lors de cette régulation présentent une grande diversité d'expressions (Haycock *et al.* 1997).

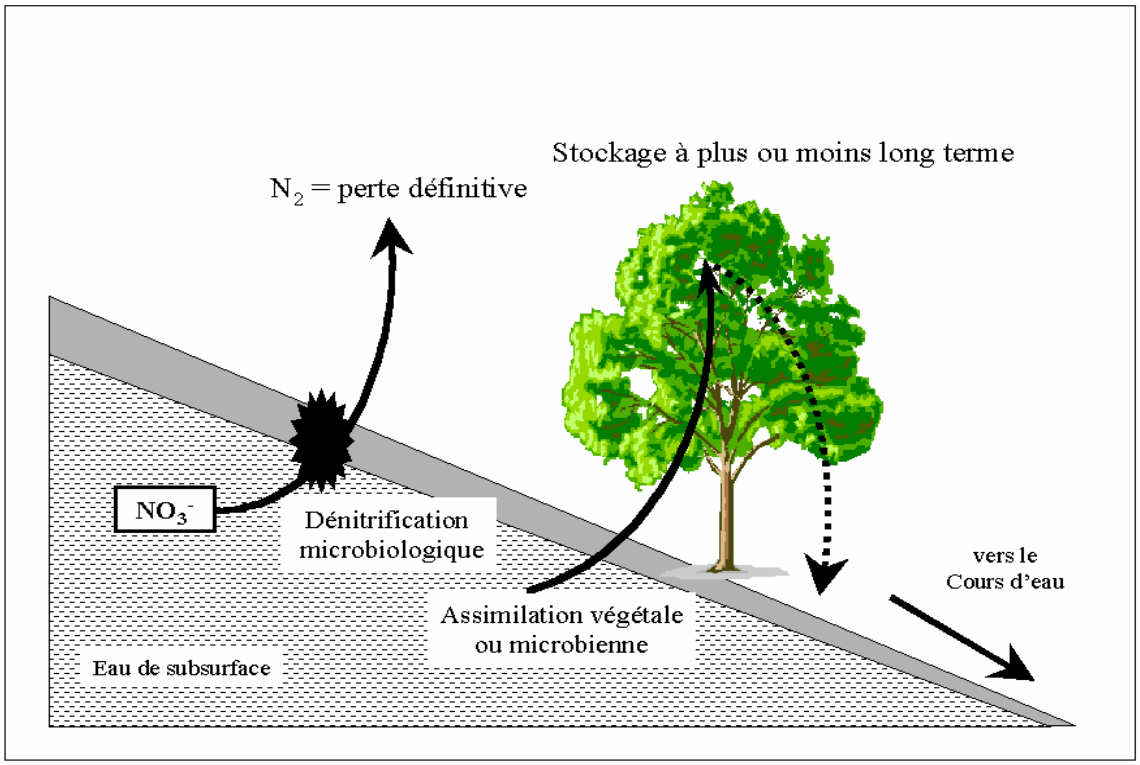


Figure 1 : Les 2 processus biologiques qui recyclent l'azote dans les zones humides de fonds de vallée. Adapté de (Peterjohn & Correll 1984).

Les plus fort taux de rétention de nitrate ont été mesurés dans des zones humides à faible topographie présentant une couche imperméable située entre 2 et 4 m de profondeur. Celle-ci oblige les eaux souterraines à s'écouler dans les couches supérieures du sol, il y a alors contact avec la végétation et le sol riche en matières organiques. La faible topographie réduit la vitesse d'écoulement à un niveau permettant à la dénitrification et à l'assimilation végétale de prélever l'azote au fur et à mesure qu'il est apporté par la nappe. Des mesures de concentrations en nitrate montrent que 90 % sont éliminés en conditions favorables (Tableau 1) (Lowrance *et al.* 1984b, Cooper 1990, Haycock & Pinay 1993, Jordan *et al.* 1993). Dans ces sites, la quasi totalité de la diminution a lieu dans les 10-20 premiers mètres de la zone humide avec des valeurs d'entrée allant de 1 à 20 mg N/L. De plus, d'un point de vue physique, des expérimentations sur des zones humides enherbées ont montré que, même avec

une pente de 16 à 23 %, elles étaient encore capables de piéger environ 90 % des sédiments provenant de l'érosion (Hairsine 1996).

Tableau 1 : Exemples des effets d'une zone humide riveraine sur la concentration en azote de l'eau de subsurface.

Caractéristiques du site	Végétation du site	Mètres dans la zone riveraine	% de diminution des concentrations	
			Total Kjeldahl N	NO_3
Pente moyenne 2.1-4.9% (max 10%) sableux à Argilo-limoneux Céréales en amont Erosion sur 2 ans avec des tempêtes épisodiques	Prairie	3	35	90
	Prairie	7	60	65
	Prairie puis forêt	6	10-40	60
	Forêt	15	40-50	65

D'après (Daniels & Gilliam 1996).

Il y a moins d'information en ce qui concerne la rétention de l'azote dans des conditions hydrologiques moins favorables, telles que la présence d'aquifères profonds qui s'écoulent sous la zone racinaire des sols riverains (Phillips *et al.* 1993, Bohlke & Denver 1995). Par ailleurs, l'eau de subsurface peut aussi arriver à la surface par le biais de sources qui émergent en hautes eaux et rejoignent directement le cours d'eau sans passer par le sol de la zone humide (Hill 1996). Dans ces deux cas, et quelque soient les concentrations en nitrate à l'entrée, le recyclage ou le stockage n'ont pas lieu.

Novotny et Olem (1995) ont trouvé jusqu'à 95 % d'élimination des ions nitrate dans une zone humide pour des intrants maximum de 10 kg N-NO_3 $ha^{-1}jour^{-1}$. Jusqu'à 80 kg N-NO_3 $ha^{-1}jour^{-1}$ l'élimination est encore significative mais le facteur prédominant devient alors le temps de résidence de l'eau dans le site. En dessous de 5 jours de résidence l'élimination de l'azote est diminuée, alors que pour plus de 5 jours de résidence les nitrates sont dénitrifiés ou assimilés.

B - Une Forte Production Primaire:

La productivité végétale des zones humides est très importante par rapport à la plupart des autres écosystèmes naturels ou anthropiques (Figure 2) (Art & Marks 1978). La productivité primaire au sein des zones humides est fonction de l'importance des apports de matières et d'énergie depuis leurs bassins versants et de l'alternance des conditions engorgées et ressuyées de leurs sols et sédiments (Brinson *et al.* 1984).

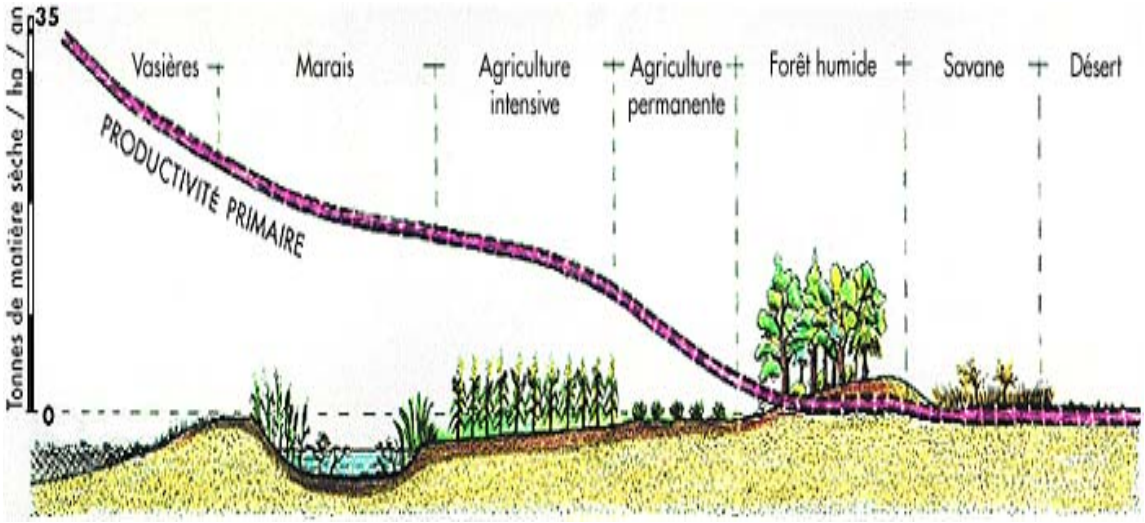


Figure 2: Productivité primaire dans différents écosystèmes naturels ou anthropiques. D'après CEMAGREF.

Des taux d'assimilation d'azote de 24.6 g N m^{-2} an^{-1} par les plantes de zones humides de bas fonds ont été mesurés en Angleterre (Oorschot 1994). Les boisements riverains de la Garonne peuvent produire de 4.7 à 6 t $ha^{-1}an^{-1}$ de litière (Chauvet 1989). L'assimilation végétale et la décomposition de la litière permettent une rétention à plus ou moins long terme dépendant des taux de lessivage et de translocation, ainsi que des structures de stockage et de la longévité des tissus végétaux (Johnston 1991).

Cependant, l'absorption de l'azote par les plantes est seulement un processus de rétention temporaire qui retient sous forme organique une partie de l'azote prélevé sous forme minérale durant la vie de l'organisme. Une plus ou moins grande partie de l'azote absorbé, proportion qui est fonction de l'état de développement de la plante, retourne au sol ou dans l'eau par le biais de la litière et des exsudats racinaires. Quoiqu'il en soit, à la mort de la plante l'azote stocké retourne dans le pool organique du sol.

La fauche de la strate herbacée ou l'abattage des arbres dans les zones humides de fonds de vallée peuvent représenter une exportation nette d'azote non négligeable. Il est cependant possible que de telles pratiques puissent augmenter significativement les flux de nutriments vers les cours d'eau de part la diminution de l'assimilation végétale et la perturbation du sol qu'elles engendrent (Adamson 1986).

C - Le Sol et la Dénitrification:

L'autre processus impliqué dans la régulation des flux d'azote provenant du versant est lié au fait que les zones humides sont le plus souvent situés dans des points bas des réseaux hydrographiques, ce qui laisse présager d'une accumulation d'eau au moins temporaires. Ces engorgements vont entraîner des variations d'oxydo-réduction des sols qui vont significativement influencer le cycle de l'azote. L'azote est présent dans les zones humides sous trois formes principales: ammoniaque (NH_4^+), nitrate (NO_3^-) et sous forme organique. La transformation d'une forme en une autre est sous la dépendance de processus microbiologiques très sensibles pour la plupart aux conditions d'oxydo-réduction du milieu (Figure 3). Des processus aérobies et anaérobies interviennent classiquement dans cet écosystème caractérisé par un niveau d'inondation variable au cours de l'année qui entraîne des phénomènes de diffusion entre les différentes formes azotées.

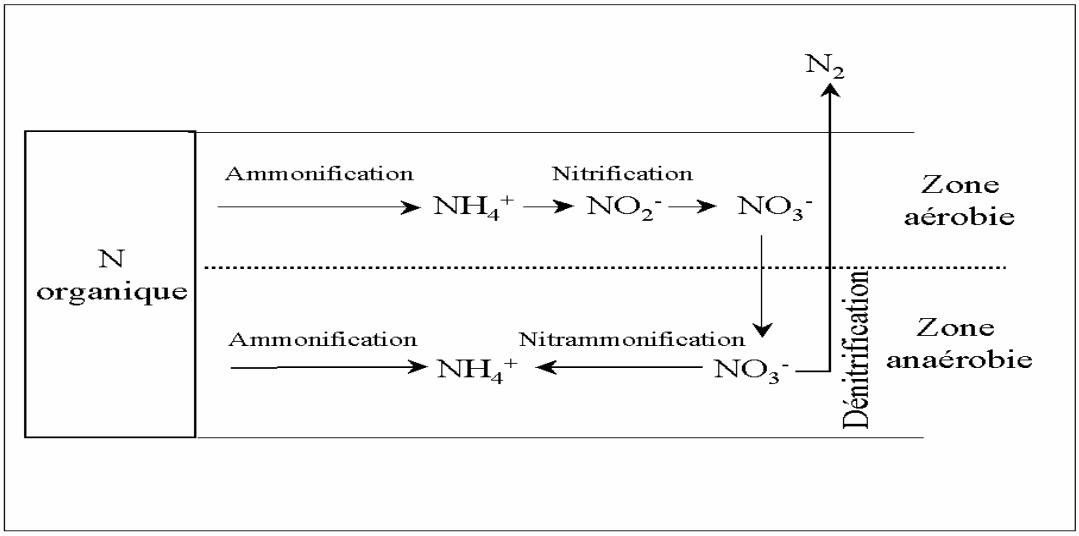


Figure 3: Cycle de l'azote dans les sols des zones humides présentant des conditions aérobies et anérobies. D'après (Reddy & Jr.Patrick 1984).

Dans les conditions aérobies, c'est à dire en présence d'oxygène libre dans les sols, l'azote organique peut être minéralisé sous forme de nitrate *via* l'ammonification et la nitrification. Les molécules organiques ammonifiées dans les sols sont surtout des composés simples tels que les acides et sucres aminées, les bases puriques et pyrimidiques qui résultent de l'hydrolyse de la matière organique.

En absence d'oxygène libre dans les sols, les conditions anaérobies sont engendrées par une demande biologique en oxygène supérieure à l'offre limitée par l'engorgement des sols, ralentissant ainsi sa diffusion. Dans ces conditions seule l'ammonification est possible parce que les bactéries nitrifiantes sont aérobies strictes. Les nitrates formés dans les zones superficielles ou microsites aérobies peuvent alors diffuser dans les sites anaérobies où ils seront dénitrifiés. La dénitrification est un processus de première importance par rapport aux travaux présentés ici, aussi nécessite-t-elle une description plus approfondie.

D – La Dénitrification et son Rôle :

1 – Définition:

Ce phénomène est principalement l'œuvre de bactéries hétérotrophes anaérobie facultatives telles que: *Agrobacterium*, *Pseudomonas, Alcaligenes* et *Nitrosomonas* (Gamble *et al.* 1977). En effet, en absence d'oxygène et en présence de matières carbonées métabolisables (source d'énergie, ATP), ces bactéries transforment les nitrates et les nitrites en composés azotés gazeux (NO, N_2, N_2O). Les oxydes d'azote jouent en fait le rôle d'accepteurs des électrons provenant de la consommation du carbone (Knowles 1981b).

Il s'agit d'une réaction biochimique de réduction dissimilative du nitrate en résidus gazeux qui peut s'écrire (Cho *et al.* 1997):

$$NO_3^- \xrightarrow{NR} NO_2^- \xrightarrow{NiR} (NO) \xrightarrow{NOR} N_2O \xrightarrow{NOS} N_2$$

Nombre d'oxydation : +5 +3 +2 +1 0

Certaines bactéries sont capables de catalyser toute la séquence alors que d'autres sont seulement aptes pour certaines étapes de la réaction. Une enzyme spécifique est nécessaire à chaque étapes: la Nitrate réductase (NR), la Nitrite Réductase (NiR), L'Oxyde Nitrique Réductase (NOR) et l'Oxyde Nitreux Réductase (NOS); la séquence de dénitrification pouvant être stoppée à chaque étape et le produit correspondant sera alors libéré (Brady 1990).

Le protoxyde d'azote (NO) est cependant une étape non systématique de la chaîne réactionnelle et qui semble dépendre de la température (Bailey 1976). Dans certains cas le N_2O est considéré comme le produit final de la dénitrification (Smith & Chalk 1980). Les émissions de N_2O sont à l'origine de préoccupations environnementales liées au fait qu'il peut agir tel un gaz à effet de serre au même titre que le CO2, le CH4 ou les C.F.C. (Batjes 1992, Conrad 1996, Germon *et al.* 1999). Au niveau de la stratosphère, le N_2O est aussi capable de jouer le rôle de catalyseur dans la réaction de destruction de l'ozone (O_3) (Kliewer & Gilliam 1995). Enfin, dans l'atmosphère, il peut être réoxydé en NO_3^- et retourné au sol sous forme de pluies acides.

Dans la relation qui lie la dénitrification au substrat carboné, Peterjohn (1986) proposent plusieurs descriptions de la réaction d'oxydation de la matière organique par le nitrate:

$$5C_6H_{12}O_6 + 12NO_3^- \rightarrow 30CO + 6N_2 + 12OH^- + 24H_2O.$$
$$5C_6H_{12}O_6 + 24NO_3^- \rightarrow 30CO_2 + 12N_2 + 24OH^- + 18H_2O.$$
$$C_6H_{12}O_6 + 6NO_3^- \rightarrow 6CO_2 + 3N_2O + 6OH^- + 18H_2O$$

La dénitrification est donc un phénomène majeur de perte d'azote pour les écosystèmes, affectant la fertilité des sols, la qualité de l'eau et la chimie atmosphérique (Tiedje 1988). Néfaste dans les agrosystèmes (rizières, champs cultivés…), la dénitrification peut s'avérer très utile dans l'élimination des excédents azotés non assimilés par la végétation et qui risquent de rejoindre les nappes ou les cours d'eau. En effet, les conditions nécessaires à l'activité dénitrifiante (Anaérobie, Carbone et Nitrate) sont fréquemment réunies dans les zones humides (Haycock *et al.* 1993), et peuvent limiter les teneurs en azote dans les cours d'eau et les nappes. Ces facteurs essentiels à la dénitrification sont qualifiés de facteurs proximaux par Groffman *et al.* (1987) car ils agissent directement sur la microflore. Les

facteurs agissant de façon "indirecte" sur cette même microflore seront eux appelés facteurs distaux, il s'agit principalement de la température, du pH, de l'humidité, de la dégradabilité et de la répartition spatiale de la matière organique, de la nature du couvert végétal, de la topographie, de l'utilisation du sol...etc. En fait, les facteurs proximaux sont intéressants lorsque l'on travaille à l'échelle de l'organisme voire du microsite, mais les facteurs distaux sont généralement plus pertinents lorsque l'on appréhende la dénitrification à l'échelle d'une parcelle et donc, à fortiori à l'échelle d'une zone humide de fonds de vallée.

2 – Facteurs Proximaux de la Dénitrification :

- L'absence d'oxygène

La denitrification est un mode de respiration anaérobie dans lequel le nitrate se substitue à l'oxygène et contribue à l'oxydation de la matière organique. L'activité dénitrifiante du sol croît de façon exponentielle avec la part de sa porosité occupée par l'eau, à partir d'un seuil situé entre 60 et 65% de cette porosité. En termes de concentration, la dénitrification serait initiée en dessous de 0.01% d'O_2 pour Groffman *et al.* (1996b), mais d'autres chercheurs ont trouvé des activités avec 0.35% d'oxygène (Nelson & Knowles 1978), et jusqu'à 2% (Dunn *et al.* 1979). Il est aussi possible que les deux respirations, oxygène et nitrate, aient lieu en même temps chez certaines bactéries (Hardman *et al.* 1993). De façon générale, il semble cependant que la présence d'O_2 ralentie la dénitrification (Tiedje 1982, Ottow *et al.* 1985), et augmente proportionnellement la production de N_2O par rapport au N_2 (Firestone *et al.* 1979, Firestone *et al.* 1980, Drury *et al.* 1992, Kralova *et al.* 1992, Kliewer & Gilliam 1995, Abbasi & Adams 2000).

En milieu aérobie, les bactéries dénitrifiantes utilisent l'oxygène comme accepteur d'électrons à la place des nitrates. En effet, la présence d'O_2 inhibe la réduction des NH_4^+ en NO_3^- et donc la fourniture de l'accepteur final des électrons des bactéries dénitrifiantes. De plus, Pichitony (1961, 1965) a montré que l'oxygène exerçait une double action sur la dénitrification, en réprimant la formation des nitrate-réductases, nitrite-réductases et oxyde nitreux-réductases, et en inhibant la fonction des deux enzymes (nitrate- et nitrite-réductases) en action lors de la dénitrification. Les conditions anoxiques, caractéristiques d'un sol hydromorphe, sont donc indispensables à la dénitrification. Il en découle qu'une aération du sol ou une augmentation de la teneur en oxygène de l'eau peuvent réduire fortement cette activité (Grundmann & Rolston 1987). Cependant, l'existence de microsites anaérobies dans des sols bien drainés a été mise en évidence et peut permettre une activité dénitrifiante non négligeable (Sextone *et al.* 1985, Groffman & Tiedje 1988, Sierra *et al.* 1995).

Enfin, l'alternance régulière de conditions engorgées et drainées est souvent bénéfique à la dénitrification en favorisant la proximité de sites de nitrification et de dénitrification (Reddy & Jr.Patrick 1975, Groffman & Tiedje 1989). En effet, lorsqu'un sol se sature en eau, les nitrates présents dans le sol sont transformés en N_2 ou N_2O *via* la dénitrification. Si par la suite ce même sol se draine, l'oxygénation permettra la nitrification des ions NH_4^+ en NO_3^- qui seront alors susceptibles d'être à leur tour dénitrifiés lors de la prochaine saturation en eau.

- La présence de carbone minéralisable:

La fourniture carbonée est de première importance pour l'activité dénitrifiante (Hardman *et al.* 1993, Paul & Clark 1996). C'est en effet la source d'énergie (ATP) et d'éléments métaboliques pour ces bactéries hétérotrophes. La disponibilité en carbone présente donc une influence à long terme sur la dénitrification, en termes d'activité

enzymatiques et de densité de populations bactériennes (Groffman 1994). Une corrélation positive a été trouvée entre les teneurs en carbone organique du sol et les taux de dénitrification (Beauchamp *et al.* 1980, Bijay-Singh *et al.* 1988, Paul & Clark 1996). Reddy *et al.* (1982) ont ainsi mesuré sur des suspensions de sols placées en anoxie un rapport molaire entre le nitrate consommé et le CO_2 dégagé variant de 0.6 à 1.8 – valeurs proches du ratio théorique de 0.8 tiré de l'équation d'équilibre de la réaction.

La fourniture de carbone est contrôlée par la production primaire (végétation et microorganismes) et la décomposition de matières organiques. Dans les sols engorgés, l'anaérobie limite le nombre d'organismes en compétition pour cette matière organique, la dénitrification est donc rarement limitée en quantité par la fourniture de carbone (Groffman *et al.* 1996a). Cependant, le carbone organique peut se présenter sous diverses formes (amidon, sucres, cellulose, protéines, lignine…) qui sont plus ou moins facilement utilisables par les bactéries dénitrifiantes, et qui influencent donc leur activité de façon très variable.
La répartition spatiale du carbone organique minéralisable pour les bactéries dénitrifiantes est généralement importante dans les horizons de surface, mais tend à fortement diminuer dans les horizons plus profonds (Christensen *et al.* 1990, Weier & McRae 1992). Néanmoins, des microsites (ou hot-spot) de dénitrification ont été détectés jusqu'à 40 cm de profondeur (Gold *et al.* 1998, Addy *et al.* 1999), et dans certains aquifères profonds (Mariotti 1994). Ces microsites peuvent d'ailleurs présenter des activités importantes, ainsi Parkin (1987) a trouvé que 85% de la dénitrification d'un échantillon de terre de 98 g venait de 80 mg de matière organique. A l'échelle du microsite, la présence de carbone favorise la respiration, ce qui diminue la teneur en oxygène et entraîne l'anaérobiose progressive du système, la dénitrification est alors possible (Christensen & Tiedje 1988, Hojberg *et al.* 1994).

Plus rarement, certaines bactéries dénitrifiantes peuvent se passer de substrat carbonés, elles sont alors autotrophes (*Thiobacillus denitrificans*, *Hydrogenomonas eutrophus*…), et utilisent dans ce cas des substrats minéraux comme source d'électrons (Sulfate, Carbonates, Oxyde de Fer, Oxydes de Manganèse) pour réduire les ions NO_3^- (Kölle *et al.* 1985).

- La fourniture en Nitrate ou d'autres formes oxydées de l'azote:

Comme nous l'avons vu précédemment les nitrates peuvent être produits par le cycle interne de la zone humide *via* la nitrification. Ils sont alors disponibles pour la dénitrification. D'autres nitrates sont importés dans la zone humide *via* les écoulements de surface et subsurface provenant des parcelles agricoles situées en haut de versant, mais aussi *via* les apports du cours d'eau soit par infiltration dans la zone hyporheique, soit par débordement en période de crues. De la même façon, les nitrates pourront alors être utilisés par les bactéries dénitrifiantes. Dans le sol, la réponse de l'activité dénitrifiante à la concentration en nitrate est dite "de type Michaelis-Menten", avec une constante apparente d'affinité Km variable selon les sols et généralement de 2 ou 3 ordres de grandeur supérieur à la constante d'affinité mesurée sur des cultures pures de bactéries. Sur des sols non remaniés, Hénault (1993) et Schipper *et al.* (1993) ont défini respectivement un Km apparent de 22 et 5 mg N kg^{-1}.

3 – Facteurs Distaux de la Dénitrification :

-Potentiel redox:

Le potentiel d'oxydoréduction (ou potentiel redox, Eh) est la valeur qui reflète les transferts d'électrons des donneurs vers les accepteurs; mesuré au moyen d'une électrode de platine combinée, il est exprimé en millivolts (mV). Le potentiel redox du sol peut être répartit en 4 domaines principaux:

- de 800 à 450 mV, l'oxygène est majoritaire et la nitrification est active, la matière organique se décompose plus ou moins rapidement selon sa nature.
- De 450 à 0 mV, le sol s'appauvrit en oxygène, la décomposition de la matière organique ralentie. En cas de pH acide les processus de réduction commenceront plus rapidement.
- De 0 à –200 mV, le sol est dit "anoxique", la matière organique subit la fermentation anaérobie, des sels ferreux (Fe^{2+}) apparaissent et colorent le sol en gris-vert (horizon Gr).
- De – 200 à –300 mV, le sol est complètement réduit, la fermentation de la matière organique entraîne des dégagements d'hydrogène sulfuré (HS^-) et de méthane (CH_4), c'est le cas dans les tourbières.

De façon générale, la biomasse bactérienne diminue au fur et à mesure que les sols sont de plu en plus réduits. Les taux de minéralisation ont en effet tendance à diminuer avec la baisse du potentiel redox (McLatchey & Reddy 1998).

Cependant, la dénitrification se produit lorsque le potentiel redox descend en dessous de +300 mV, à ce stade la majorité de l'oxygène su sol a été consommée et n'exerce plus d'effet inhibiteur sur les bactéries dénitrifiantes. Le potentiel redox se maintient aux alentours de +200 mV pendant la dénitrification des ions NO_3^-, puis descend à +180 mV lors de l'utilisation des ions NO_2^-, la dénitrification étant estimée comme complète lorsque le potentiel redox équivaut à +100 mV (Knowles 1981a). Dans le cas d'une transition aérobie-anaérobie, comme cela arrive lorsque la nappe vient submerger les horizons superficiels des zones humides fonds de vallée, on assistera à une séquence de réductions. Après que la respiration aérobie ait épuisé l'oxygène disponible, les bactéries dénitrifiantes et les ferriréductrices réduisent le nitrate et le fer, en abaissant le potentiel redox du milieu. Les fermentations peuvent alors intervenir engendrant des métabolites (alcools, acides organiques) utilisables par des bactéries anaérobies strictes. Celles-ci sont, tout d'abord, les sulfatoréductrices puis les bactéries méthanogènes en fin de processus.

Il est important de souligner que la dénitrification est donc le premier processus de réduction à entrer en jeu après la consommation de l'oxygène du sol, et que, dans le cas des zones humides de fonds de vallée, les alternances aérobie-anaérobie sont souvent rapides et ne permettent pas à tous les phénomènes de réduction de s'exprimer.

Enfin, certains auteurs mettent en doute l'utilisation de la mesure du potentiel redox d'un sol comme outil d'étude de la dénitrification (Wit 1995, Jaffrezic 1997). En effet, le nitrate et l'oxygène ne sont pas électroactifs et les valeurs de potentiel redox peuvent varier selon le pH et la température (Mitsch & Gosselink 1993).

- Le pH:

Le pH optimal de fonctionnement de la dénitrification semble se situer entre 6 et 8. Cependant, on observe des activités dénitrifiantes dans un large spectre de pH. A pH très faible, l'acidité du sol peut diminuer la densité bactérienne, de plus cette acidité diminue aussi la nitrification et donc la fourniture en nitrate pour les bactéries dénitrifiantes. Enfin, les émissions de NO et N_2O sont aussi favorisées par des pH acides (Knowles 1981a).

- La Température:

La dénitrification est un processus biologique qui, en tant que tel, est largement influencé par la température ambiante. Pourtant ce facteur a été relativement peu étudié au fil des recherches sur cette activité bactérienne. Quelques auteurs rapportent des seuils de températures au delà desquels les sols commencent à dénitrifier:

3°C pour Nommik (1956)
2°C pour Bremner et Shaw (1958)
5°C pour Stanford *et al.* (1975b)
4°C pour McKenney *et al.* (1980)
0°C pour Lippold *et al.* (1989)
-2°C pour Dorland et Beauchamp (1991)

Smid et Beauchamp (1976) rapporte que la dénitrification peut se produire à 0°C si la fourniture en substrat carboné est suffisante. Pour des sédiments de marais salé, la dénitrification *in vitro* augmenterait avec la température de stockage (Kaplan *et al.* 1977), et il pourrait exister 2 populations distinctes de bactéries dénitrifiantes actives à des températures différentes. Dans une étude sur des échantillons sédimentaires de marais salés, des variations saisonnières significatives du taux de réduction du nitrate seraient dues à 2 populations bactériennes. La première serait psychrophile et capable de dénitrifier à basses températures, la seconde dite mésophile serait active à des températures plus élevées (King & Nedwel 1984). Il semble en effet que les bactéries dénitrifiantes présentes dans un sol soient adaptées aux conditions de température moyenne de leur climat; un sol de région tempérée dénitrifie plus rapidement à basse température qu'un sol de zone tropicale (Powlson *et al.* 1988).

Si des controverses demeurent quant au type de bactéries actives à telle ou telle température, il en existe également une sur la température minimale à laquelle la dénitrification se déclenche; on peut d'ailleurs observer que celle-ci a diminuée au fil des années, correspondant peut-être aussi à l'abaissement de la limite de détection des outils de mesures.

4 – Quelques Chiffres :

La dénitrification est un processus biologique permettant une élimination définitive des nitrates, de ce fait elle est souvent à l'origine des capacités tampons des zones humides de fonds de vallée. A ce titre, de nombreuses études ont tenté de mesurer son intensité dans divers types de zones riveraines afin d'appréhender les divers facteurs la contrôlant.

En conditions favorables, les quantités d'azote prises en charge par la dénitrification peuvent égaler celles de l'assimilation végétale, et peuvent capturer 50 à 98% de l'azote (Nelson *et al.* 1995). Cependant, cette dénitrification est fortement variable dans le temps et dans l'espace. En effet, Montgomery *et al.* (1996) ont trouvé des diminutions de 60-68% des teneurs en nitrate au cours d'une étude dans des microcosmes de sol. Ces concentrations semblaient être corrélées avec la valeur du flux d'arrivée des nitrates; fortes lorsque les flux étaient élevés en hivers et au printemps, plus basses ou indétectables lorsque les flux étaient plus faibles en été et en automne. La vitesse des écoulements semble donc prépondérante dans la détermination de la capacité tampon d'une zone riveraine. Ainsi, une dénitrification de 2.4 10^{-5} g N $L^{-1}h^{-1}$ peut réduire la concentration en nitrate de l'eau souterraine de 20 à 0 mg NO_3 L^{-1} en 35 jours, à condition que le temps de résidence de l'eau soit d'environ d'une année (Starr & Gillham 1993).

Un autre facteur est la quantité de matière organique, source d'énergie des bactéries dénitrifiantes. Des études ont testé la dénitrification à l'intérieur d'un fossé de 35 m de long et de 1.5 m de profondeur et de large contenant un sol enrichit en matière organique (Schipper & Volvodic-Vukovic 1998). La concentration de l'eau en nitrate passait de 6-15 mg NO_3 L^{-1} à 2 mg NO_3 L^{-1}, ce qui représente une moyenne journalière de 8 g d'azote éliminé par mètre de fossé parcouru, en d'autres termes 1 m^{-3} $jour^{-1}$ d'eau était traité.

Tableau 2 : Exemples de taux de dénitrification mesurés dans différentes zones humides riveraines.

	Taux de Dénitrification kg N ha^{-1} $jour^{-1}$
(Fustec *et al.* 1991)	1.3
(Engler & Patrick 1974)	3.5
(Schipper *et al.* 1993)	11.2
(Lowrance *et al.* 1984b)	31.5
(Pinay *et al.* 1993)	56 – 104
(Hanson *et al.* 1994)	40
(Zak & Grigal 1991)	10 - 16

La variabilité des taux de denitrification obtenus dans diverses études (Tableau 2) traduit le fait que ce processus est très sensible aux différentes conditions du milieu et que son évaluation reste donc délicate.

Quoiqu'il en soit la dénitrification participe de façon efficace à la diminution des teneurs en nitrate de l'eau, du moins lorsque les conditions sont toutes réunies. C'est le cas de façon régulière en période hivernale au sein d'une zone humide. Cependant, les zones humides de bas-fonds possèdent une structure spatiale en mosaïque qui est fonction de la géomorphologie des sites, de l'hydrologie locale ainsi que des processus biogéochimiques qui limitent plus ou moins les apports exogènes. A cette variabilité spatiale s'ajoute une variabilité temporelle qui diminue encore la probabilité d'avoir une dénitrification optimale dans une zone rivulaire à un temps t (Hanson *et al.* 1994).

IV – VEGETATION RIVERAINE ET DENITRIFICATION

Comme nous l'avons vu précédemment la productivité primaire des boisements riverains dépasse largement celle des autres écosystèmes forestiers (Chauvet & Jean-Louis 1988). Sur 2 ripisylves de la Garonne des taux d'absorption racinaire de 16 g N m^{-2} an^{-1} ont été mesurés et sont comparables à ceux de la dénitrification. La période durant laquelle l'absorption racinaire est maximale se trouve être décalée par rapport au maximum de dénitrification : sous nos climats, elle est notable du printemps à l'automne, période durant laquelle la dénitrification est minimale. Ce décalage assure une utilisation des nitrates disponibles de la fin de l'hiver à l'automne. La végétation riveraine stocke donc l'azote pendant la période de végétation, puis le restitue en partie sous forme de litière qui sera minéralisée; les nitrates qui en résultent peuvent être alors utilisés par les micro-organismes dénitrifiants durant la période de hautes eaux de fin d'hiver ou de début de printemps (Figure 4).

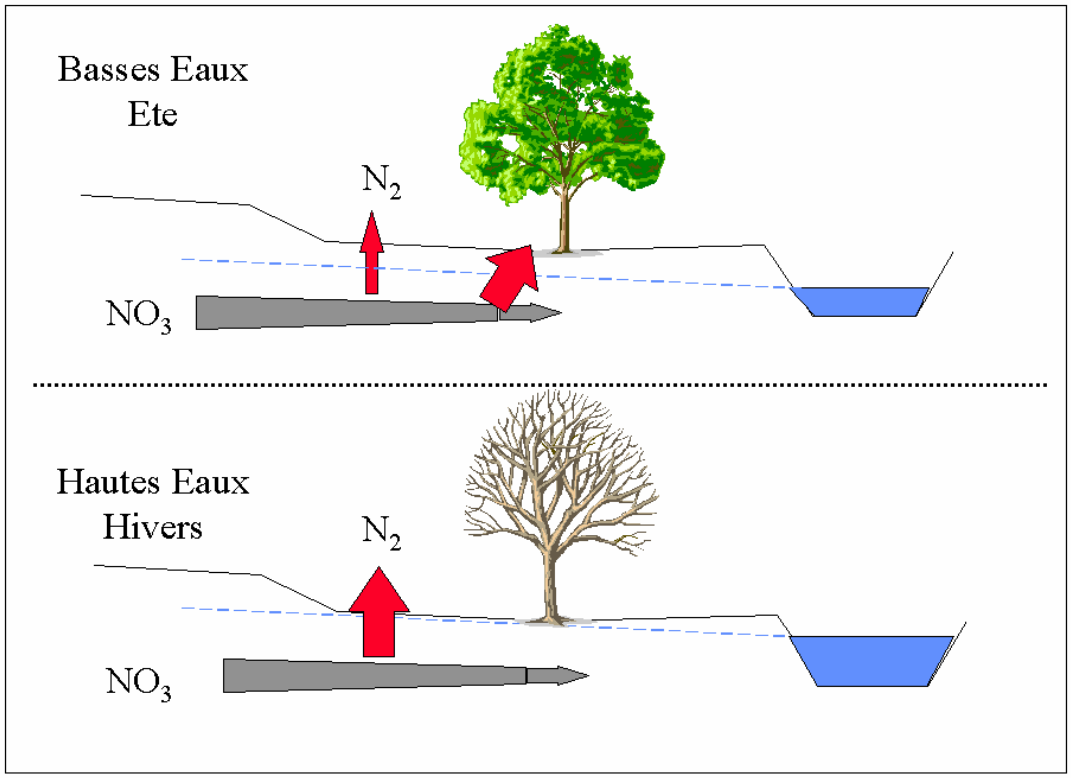


Figure 4: Illustration de la complémentarité Végétation – Dénitrification pour la ressource azotée au cours des saisons sous climat tempéré.

V- POSITION DES RIPISYLVES DANS LE BASSIN VERSANT

Les zones riveraines inondables sont parcourues de flux hydriques d'origines et d'intensités variées; les eaux superficielles les inondent de façon périodique lors des crues, tandis que les eaux souterraines des nappes phréatiques les traversent durant leur transfert de façon quasi permanente. Les influences relatives de ces eaux superficielles et souterraines varient en fonction de la situation des zones riveraines dans le réseau hydrographique (Figure 5). Toutes deux se traduisent par des apports de matières, en particulier d'azote, sous forme organique et minérale.

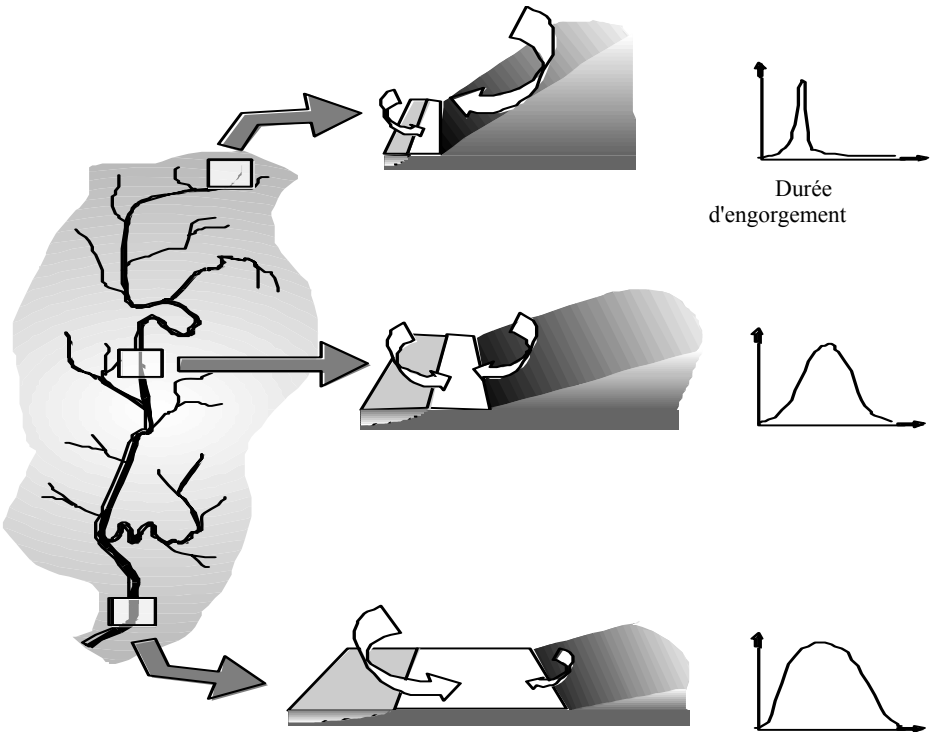


Figure 5: Relations entre les ripisylves et le bassin versant en fonction de leur position dans le réseau hydrographique (Tabbachi *et al.* 1998). Les flèches symbolisent les transferts d'eau et d'éléments associés entre le versant et le cours *via* les zones humides riveraines.

La forme organique est liée au transport de matières solides dans les bassins versants et résulte de processus d'érosion et de sédimentation. Cependant la majeure partie des transferts d'azote se fait sous forme dissoute (Armstrong & Burt 1993). Par conséquent, la position des zones humides vis à vis de ces écoulements de surface et/ou de subsurface est primordiale, dans la mesure où elle conditionne la proportion d'eau et donc d'azote dissous qu'elle va pouvoir intercepter. L'ampleur de cette fonction de régulation des flux d'azote dissous va donc dépendre de la localisation géographique des ripisylves. Ainsi, en tête de bassin hydrographique, la majeure partie des apports d'eau entrant dans une ripisylve seront à dominante d'écoulements de subsurface (apport d'azote sous forme de nitrate dissous) et vont provenir de son bassin versant adjacent (Figure 4). Par ailleurs, l'efficacité des ripisylves en tête de bassins est amplifiée du fait qu'elles représentent une grande longueur d'interface entre les milieux terrestres et aquatiques. En effet, il a été calculé qu'environ 50% du réseau de drainage de la Garonne ou de la Seine sont constitués de cours d'eau d'ordre 1 (cours d'eau pérenne sans affluent pérenne selon la classification de Strahler (1957).

Dans la partie aval des réseaux hydrographiques, la longueur d'interface des grands cours d'eau est très faible en comparaison de celle développée par leurs petits affluents. De plus, la majeure partie des apports d'eau dans les zones riveraines présentes se feront par

l'intermédiaire du cours d'eau lors des débordements de crues, même s'il existe des échanges entre le cours d'eau et la ripisylve à travers la berge (Garcia *et al.* 1994, Pinay *et al.* 1998, Moneron 1999). Les apports d'azote seront alors essentiellement particulaires et liés aux sédiments déposés (Brunet *et al.* 1993).

En résumé, si les zones riveraines peuvent être utiles dans la régulation des flux d'azote provenant des bassins versant agricoles, c'est principalement en tête de bassin qu'elles devraient se situer, là où la longueur d'interface est la plus grande et où les apports se font majoritairement par écoulements de subsurface sous forme de nitrate dissous.

Néanmoins, il ne faut pas oublier les autres intérêts que peuvent avoir les zones humides présentent en aval des réseaux hydrographiques (régulations des crues, biodiversité…).

VI – LA NOTION DE ZONE ACTIVE

Il est maintenant clair que si les écoulements d'eau depuis le versant conditionnent les apports allochtones en nitrates dans les zones humides; les écoulements au sein de ces zones ne sont pas homogènes (Burt 1997). Qui plus est, les écoulements de subsurface dans les zones humides sont court-circuités ou empruntent des chenaux préférentiels qui limitent leur capacité de rétention des flux d'azote (Lowrance *et al.* 1997). De nombreuses études récentes ont montré que lorsque les zones humides présentaient une capacité de régulation des flux d'azote allochtones, c'était au niveau de leur interface avec le milieu terrestre adjacent (Haycock *et al.* 1997). En effet, c'est en général au niveau de cette interface que les conditions nécessaires au maintien de l'activité dénitrifiante se recouvrent spatialement (Figure 6) (Patrick & Tusneem 1972, Reddy 1982, Pinay & Décamps 1988).

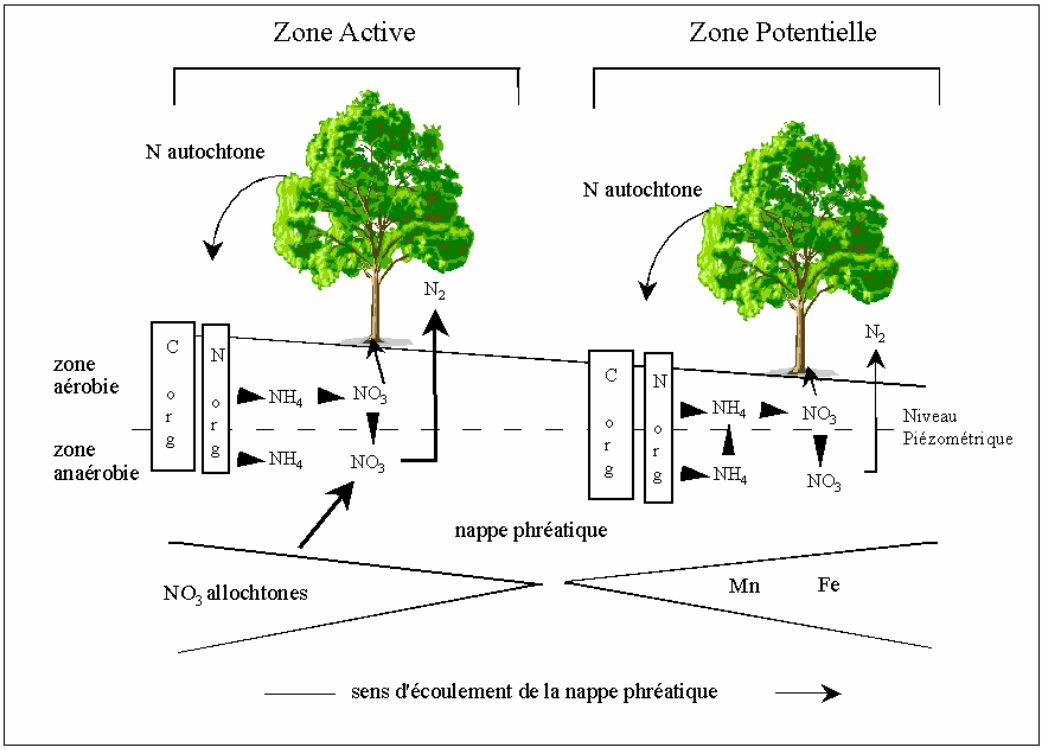


Figure 6: Modèle conceptuel de la régulation des flux d'azote provenant des nappes phréatiques. D'après (Pinay & Décamps 1988).

Les nitrates provenant de la nappe phréatique sont éliminés par les bactéries dénitrifiantes dans les horizons anaérobies du sol ou absorbés par la flore microbienne du sol et la végétation au fur et à mesure que la nappe s'écoule sous la ripisylve (Zone Active). Lorsque les nitrates allochtones sont épuisés, la dénitrification ou l'absorption sont essentiellement alimentées par des nitrates provenant de la nitrification de l'azote organique des sols et des litières dans les horizons aérobies (Zone Potentielle). La présence de manganèse et/ou de fer réduits à l'aval de l'écoulement des nappes, comme c'est le cas dans la partie "Zone potentielle" du schéma, témoigne d'une demande en accepteurs d'électrons supérieure à ce que peuvent fournir les oxydes d'azote. La disparition de l'azote nitrique est sous la dépendance des conditions d'hydromorphie et de la vitesse d'écoulement des nappes. Cependant les capacités de prélèvement de l'azote sont très importantes puisqu'une dizaine de

mètres d'écoulement des nappes phréatiques sous les ripisylves permet une élimination de 70 à 100% suivant les cas (Peterjohn & Correll 1984, Pinay & Labroue 1986, Cooper 1990).

Les parties des zones humides situées plus en aval par rapport à l'écoulement provenant du versant sont considérées comme des zones d'activité dénitrifiante potentielle mais celle-ci est en général limitée par l'absence de nitrates. Cette observation souligne qu'il est préférable d'évaluer l'efficacité de régulation des pollutions azotées diffuses des zones humides dans les bassins versants, non en termes de surfaces de zone humide mais en termes de longueur d'interfaces zones humides-versants terrestres.

L'aération du sol:

Contrairement à ce que l'on pouvait penser, les zones constamment engorgées ne sont pas les sites où la dénitrification est maximale (Pinay *et al.* 1993). En effet, dans cette condition la dénitrification peut être limitée par la fourniture de nitrates dont la production est bloquée par manque d'oxygène. Par contre les sols soumis à des engorgements fréquents mais de courte durée sont le siège d'une activité microbienne intense et le recyclage de l'azote y est très rapide (Pinay *et al.* 1989). L'azote organique minéralisé jusqu'au stade nitrate durant les exondations peut être alors utilisé durant les phases d'inondation par les micro-organismes dénitrifiants. De faibles variations topographiques dans les ripisylves peuvent induire de grandes variations dans le cycle de l'azote et notamment dans l'activité dénitrifiante à l'échelle du mètre carré (Pinay *et al.* 1989). Ces variations des conditions d'engorgement peuvent exister dans le temps dans un même horizon de sol, ou dans l'espace le long d'une caténa ou d'un profil de sol en relation notamment avec des variations de texture.

VII – TYPE DE VEGETATION

Les zones humides de fonds de vallée peuvent présenter divers types de couvertures végétales allant de la prairie humide majoritairement herbacée à la ripisylve principalement arborescente. La végétation peut évoluer ou régresser vers un autre stade selon les aléas climatiques (inondations, tempêtes) ou anthropiques (fauche, pâturage). Dans les recherches sur les capacités tampons des zones humides riveraines la comparaison de différents types de végétation, comme facteur influençant les taux de rétention de l'azote, a souvent été entreprise avec au final plus ou moins de succès.

La végétation riveraine produit une quantité de litière importante. Cette litière plus ou moins facilement décomposable fournit une source de composés carbonés. De plus, les exsudats racinaires riches en carbone facilement utilisable par les micro-organismes sont produits dans les horizons plus profonds où ils peuvent soutenir une activité microbienne dénitrifiante.

Cooper (1990) a étudié deux prairies inondables différant par leurs teneurs en matières organiques carbonées (560 et 27-170 mg C kg^{-1}sol). La plus riche exportait jusqu'à 90% des nitrates entrant, alors que la plus pauvre était incapable de recycler quoi que ce soit en hiver et seulement 40 à 60% le reste de l'année.

Parry *et al.* (1999) ont montré que la différence, en termes de dénitrification moyenne, entre un pâturage (3.63 µg N kg^{-1} j^{-1}) et un champ cultivé (50.82 µg N kg^{-1} j^{-1}) était plutôt le résultat de la distribution spatiale des pores dans les sols résultant des pratiques agricoles. En effet, d'après leur étude, la quantité et la qualité de la matière organique sur ces 2 sites n'expliquent pas les différentes activités dénitrifiantes observées. Par contre, la distribution de la matière organique particulaire dans le sol semble correspondre à la distribution de l'activité dénitrifiante.

Dans des conditions optimales (denitrification potentielle), d'autres études ont montré qu'un sol de prairie pâturée présentait des activités dénitrifiantes nettement supérieures à celles provenant d'un sol cultivé (Lensi *et al.* 1995, Sotomayor & Rice 1996).

Dernièrement, Addy *et al.* (1999) n'ont observé aucun effet de la végétation en comparant des zones humides prairiales et forestières (les racines des arbres diffusant jusque dans le sol de la prairie humide). Ils ont estimé des capacités d'élimination de l'azote allant de 21 à 171 kg N-NO_3 ha^{-1} an^{-1} en utilisant une épaisseur de sol jugée biologiquement active (0.2 à 0.9 m sous la surface).

D'autres ont montré que les zones humides herbacées présentaient des taux de recyclage inférieurs à ceux de zones humides forestières (Osborne & Kovacic 1993, Hubbard & Lowrance 1997).

Haycock et Pinay (1993) ont comparé les capacités tampons de deux plaines inondables, une prairie et une peupleraie. 100% des nitrates étaient éliminés dans la prairie quelque soient les concentrations d'entrée. Pour sa part, la peupleraie recyclait 84% des nitrates mais ce pourcentage diminuait si la concentration à l'entrée était supérieure à 8 g N m^{-2}. Enfin, Peterjohn et Correll (1986) ont quant à eux montrés qu'une zone humide forestière était capable de recycler 80% des nitrates provenant de l'érosion et 85% de ceux présents dans l'eau souterraine. La quantité de carbone fournit par la végétation semble donc avoir un impact certain sur la dénitrification, mais il faut souligner que la qualité de ce même carbone est tout aussi importante, ainsi que sa disponibilité pour les micro-organismes *via* la structure du sol. Ainsi, pour des zones humides ne subissant pas d'activité agricoles, une litière, selon sa nature, sera plus ou moins facilement minéralisable, et donc plus ou moins rapidement utilisable par les bactéries dénitrifiantes notamment. Des zones humides présentant des couvertures végétales différentes devraient donc, dans ce cas, avoir un impact différent sur l'activité dénitrifiante.

HYPOTHESES DE RECHERCHE

Les zones humides de fonds de vallée sont donc des espaces de transition (écotone) entre deux écosystèmes; l'écosystème terrestre (terres agricoles, forêts, lande…) et l'écosystème aquatique de la rivière. Cette situation privilégiée fait que ces zones sont le lieu de passage obligé des flux hydriques de surface et de sub-surface provenant du système terrestre et se dirigeant vers le système aquatique ouvert (Charrier 1995). Les éléments polluants, notamment les nitrates, sont ainsi transportés *via* les écoulements d'eau jusqu'à la zone humide où ils peuvent être pris en charge par les processus biologiques favorisés par les conditions du milieu (dénitrification, assimilation végétale et microbienne), la nature pédologique et floristique de la zone humide ainsi que sa position d'interface étant à l'origine de ces capacités tampons.

Cependant, au regard de la bibliographie, plusieurs questions restent encore à éclaircir:

- L'hydrologie de zones riveraines est-elle aussi simple que le modèle généralement admis? Et dans quelles mesures influence-t-elle la régulation des pollutions azotées diffuses ?

- L'assimilation végétale et de l'activité dénitrifiante sont-elles réellement complémentaires ou bien en compétition pour l'utilisation de l'azote allochtone provenant du bassin versant?

- La position de la zone active définie précédemment évolue-t-elle spatialement au sein des zones riveraines en fonction des conditions hydrologiques et des activités biologiques ?

- Comment peut-on appréhender la part respective de la dénitrification et de la végétation dans la régulation des flux d'azote au sein des ripisylves ainsi que leurs évolutions spatio-temporelles ?

- Dans un même contexte hydrogéomorphologique, le type de couverture végétale influence-t-il les capacités de régulation des flux d'azote allochtones ?

Ces questions ont servi de fil conducteur pour l'ensemble de mes travaux. Elles ont été traduites en hypothèses de recherches que j'ai ensuite testées *in situ* dans une ripisylve située au nord de l'Ille-&-Vilaine. Les résultats de ces travaux font l'objet des chapitres suivants.

Les Zones Humides de Fonds de Vallée et la Régulation des Pollutions Azotées Diffuses.

STUDY SITES AND EQUIPMENT:

I – Geographical localisation:

The experiments described in this thesis were made in a riparian strip located 10 km south-west of the Mont-Saint-Michel Bay (Brittany, France: 48.3°N; 1.3°W) (Figure 1) at an altitude of around 20 m above the sea level.

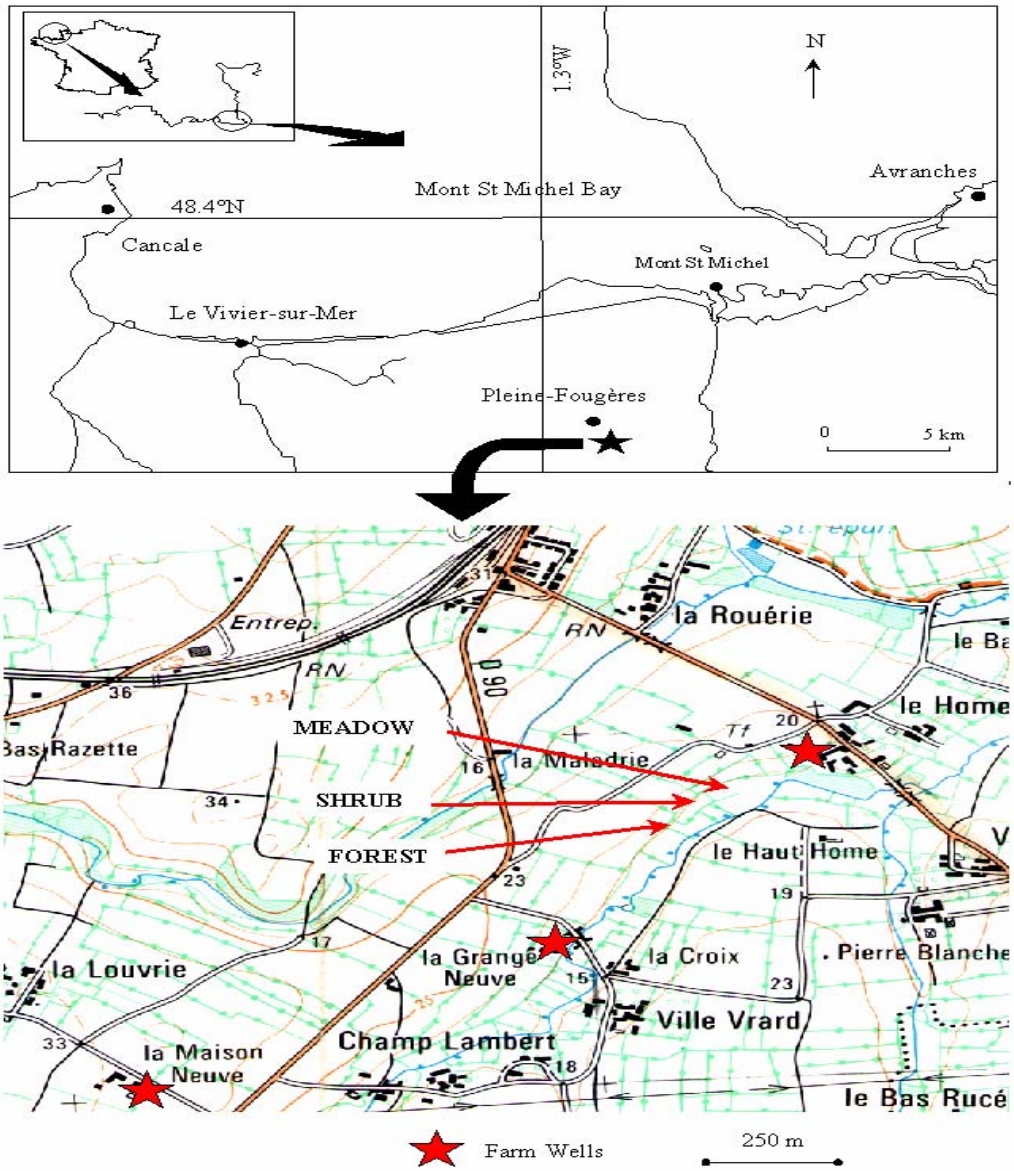


Figure 1: Riparian site location. From IGN blue map (n°1216 est) - Institut Géographique National.

The region has a mild oceanic climate. Annual rainfall ranged from 850 to 900 mm in 1998-2000, with a regular distribution throughout the year. The annual mean temperature was 11.6°C, July and August being the warmest months with temperatures rising to 25°C. The lowest temperatures (-2.6°C) were measured in winter. Annual Penman evapotranspiration varied between 600 and 650 mm for the same period.

The study area was located along a 4th order stream (Le Petit Hermitage) which is 5 km long with an annual discharge of about 90 L.s^{-1} (Figure 2). It takes its source in the Villecartier forest and flows to the Couesnon River which ends in Mont-Saint-Michel Bay.

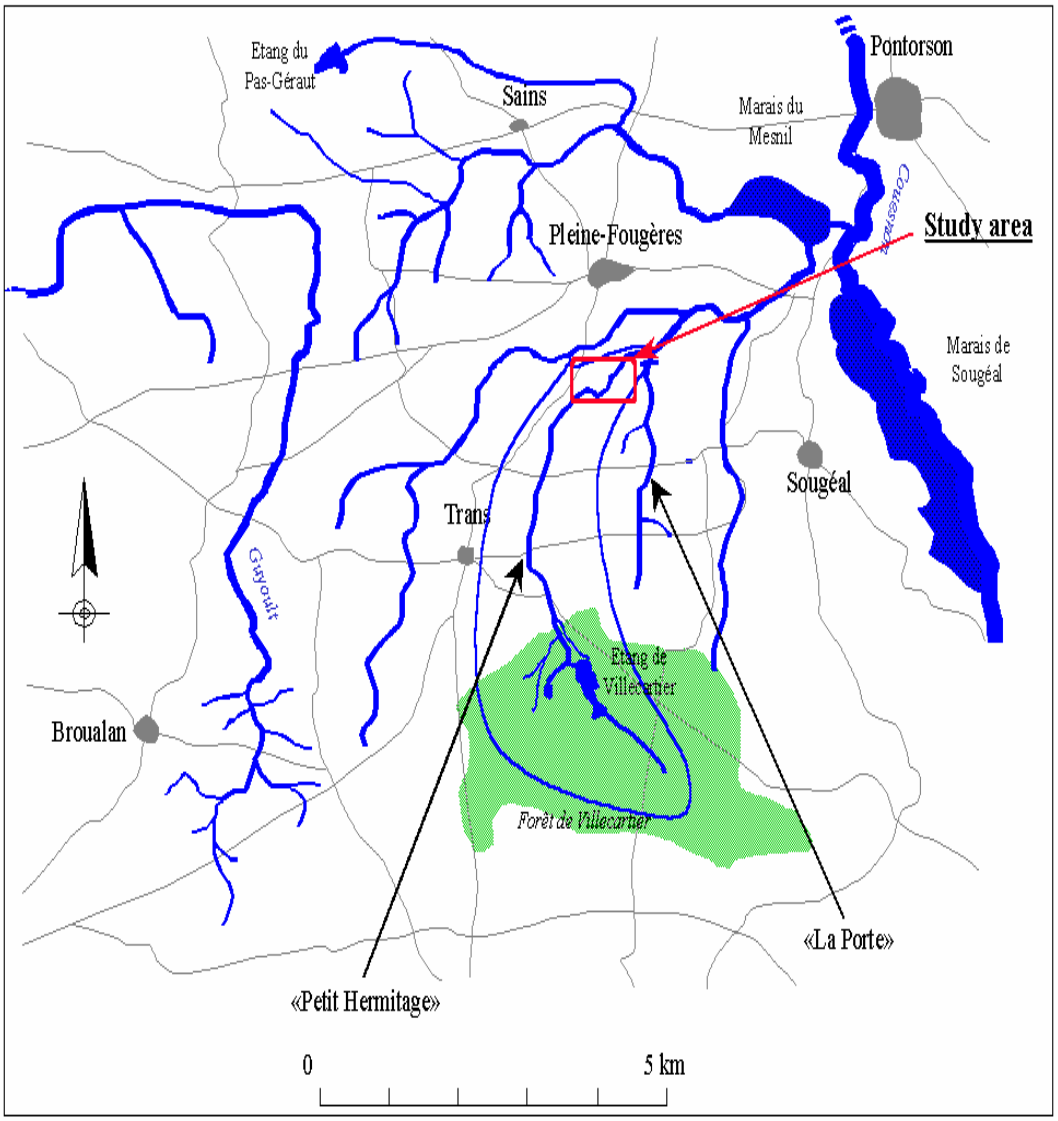


Figure 2: Hydrological basin of the study area.

II – Human activities in the catchments:

"Le Petit Hermitage" stream drains a 10 km² watershed with a rather dense hedgerow network, despite recent field re-allotment. A hedgerow is typically composed of a tree row (oaks and/or chestnuts are dominant) with shrubs on an earthen bank (Baudry et al. 2000). Most of the drainage basin is occupied by agricultural activities such as crop fields, grassland, and dairy breeding.

III – Geological characteristics of the watershed:

The geological substratum of the watershed was granite in the upstream part (Villecartier Forest in the massif of Bonnemain), and of cornéennes and micaschists (Brioverien Schists) in the downstream part in which the study site is located. Therefore, the permeability was low and the stream hydrological regime was characterized by permanent flow towards the river in dry periods and rapid and significant flood events during high water periods.

IV – General description of the study sites

The study area (650 m long and 80 m wide) was located between two small villages called La Grange-Neuve and Le Home. The upland boundary was characterized by a steep 2-3 m drop in elevation from surrounding agricultural fields into the riparian ecosystem. The upland slope was approximately 5° and decreases to 2°80' in the riparian strip. A relict channel, roughly parallel to the stream and 30 m from the hill slope, flowed in high water periods and dried up during summer (Figure 3). Given the property maps of 1834 and 1992, this relict channel already existed in 1834. Indeed, the relict channel was the natural stream bed until the current stream was straightened to the south border of the riparian strip. A GPS investigation confirmed that the stream level was above the relict channel. The relict channel meandered from the forested site to the shrub site, while in the meadow it had been straightened as a ditch which flowed into the stream at the exit of the riparian strip (Figure 3).

In this riparian strip, 3 sites were selected at the upland-riparian interface. They differed in their vegetation cover. Along the left bank of the stream we found successively: a Forested site, a Shrub site, and a Meadow from upstream to downstream. These 3 sites differed also in the type of agricultural practices occurring in the upland fields (Table 1).

Table 1: The 3 study sites and the agricultural practices on the upland fields:

Study site	Upland fields
Meadow	Grassland (Ray-grass) (hay and pasture)
Shrub	Corn /Wheat
Forested site	Corn/Wheat/Pea

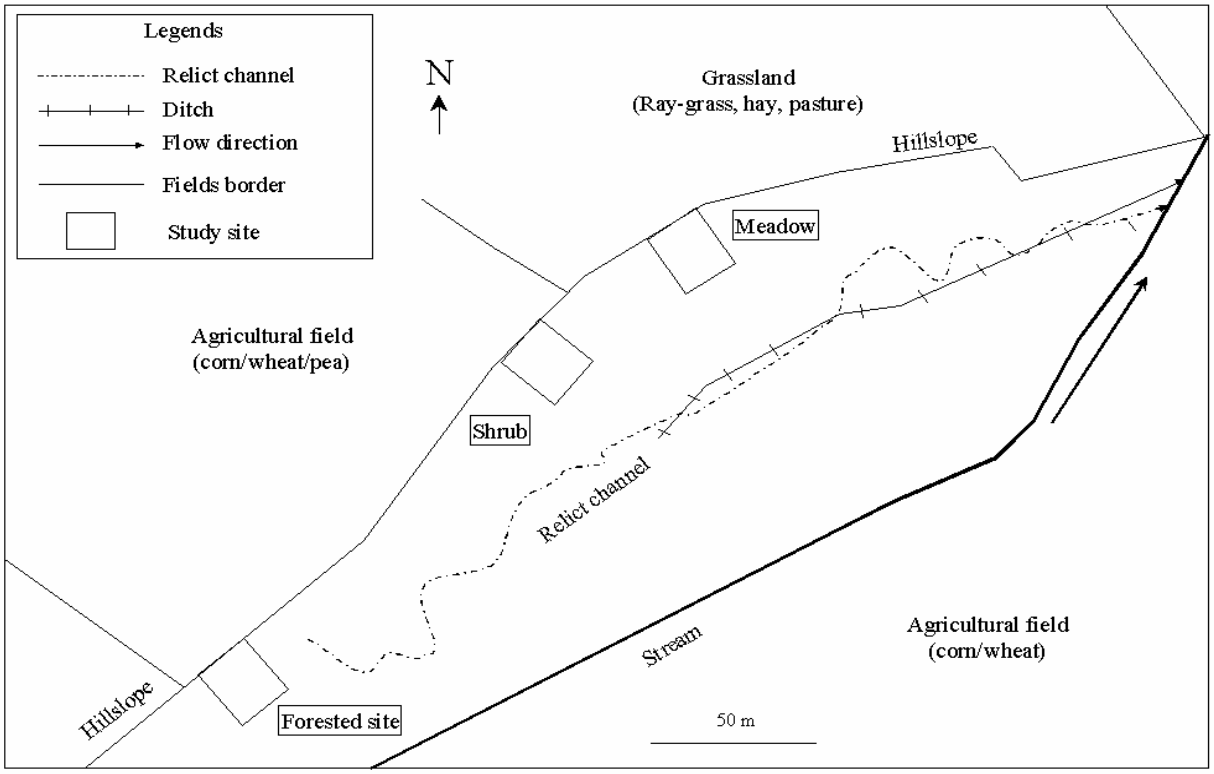


Figure 3: Study sites location within the riparian strip. The relict channel line was drawn after the 1834 property map. The ditch has existed since 1990.

V – Equipment:

62 wells were installed within the 3 study sites. Rainfall, soil and atmospheric temperature were recorded every 15 min by a data logger (Campbell Scientific CR10X).

Basically, the 3 study sites (Forest, shrub and Meadow) were equipped with 3 transects of 4 piezometers each, from the hill slope to the relict channel (Figure 4, 5,6,7,8 & Table 2). A piezometer consists of an open hole drilled down into the saturated zone to a depth between 138 cm to 208 cm, lined with a perforated plastic tube (3 cm diameter, 250 cm long). The holes are deep enough to intercept the water table at all times. The plastic tubes were perforated along the bottom 50 cm and covered with a suitable cap.

Additional deeper wells (7.5 cm diameter, and from 270 to 850 cm deep) were installed within the study sites (Figure 4, Table 2) in collaboration with the BRGM company (H. Talbo and H. Pauwels). Finally, to characterize the regional aquifer, a stage recorder was installed into the stream to record water level and connected to the data logger. Likewise, 3 farm deep wells were investigated for water chemistry (Figure1 & 4, Table 2).

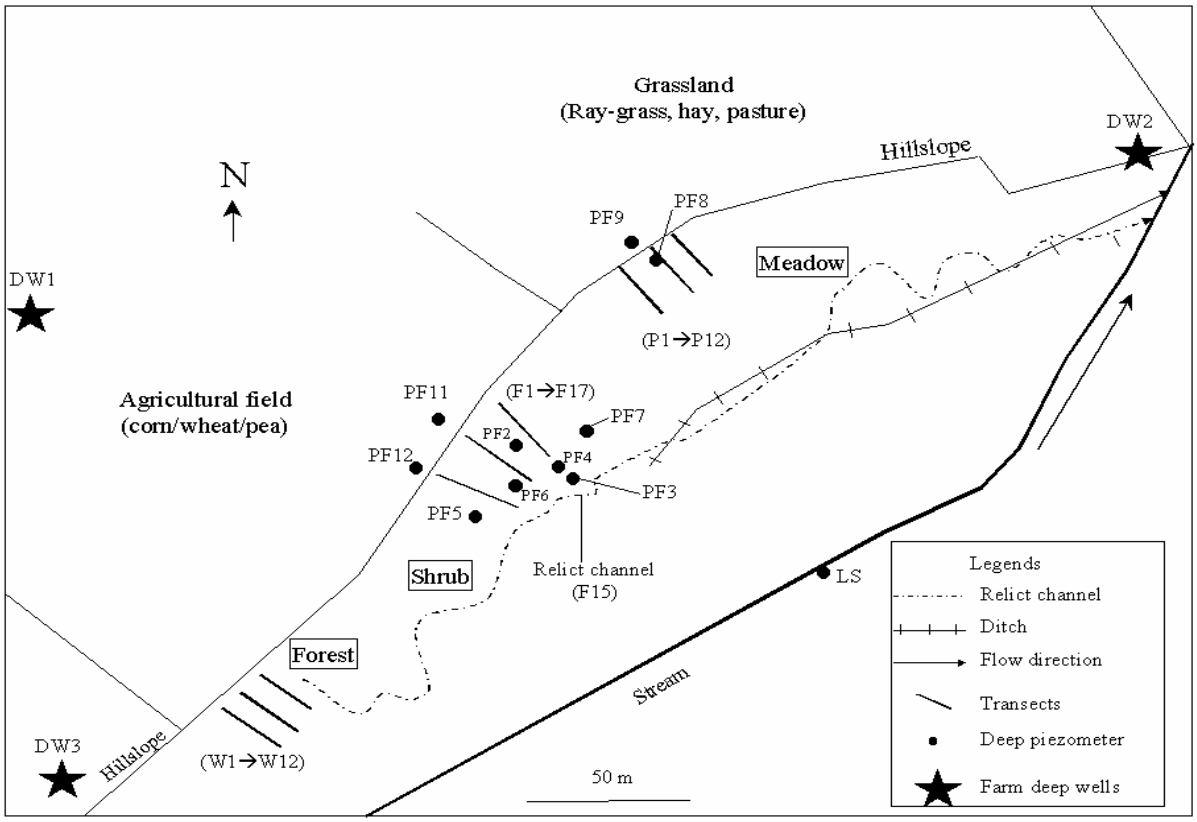


Figure 4: Location of the piezometers and wells within the study sites. References between brackets are the name of the piezometers from the riparian transects of each study site.

Table 2: Piezometer characteristics.

Location	Piezometer	Depth	Drilled portion
Meadow	12 wells (P1→P12)	138 to 208 cm	50 cm
	PF8	400 cm	200 cm
	PF9 (upland)	470 cm	300 cm
Shrub	17 wells (F1→F17)	175 to 244 cm	50 cm
	Relict channel (F15)	183 cm	50 cm
	PF2	270 cm	200 cm
	PF3	780 cm	400 cm
	PF4	270 cm	130 cm
	PF5	340 cm	240 cm
	PF6	350 cm	250 cm
	PF7	350 cm	250 cm
	PF11 (upland)	850 cm	400 cm
	PF12 (upland)	840 cm	400 cm
	LF2	140 cm	50 cm
Forest	12 wells (W1→W12)	138 to 208 cm	50 cm
Farm deep wells	DW 1	30-32 m	
	DW 2	11 m	
	DW 3	7-8 m	
Stream	LS		

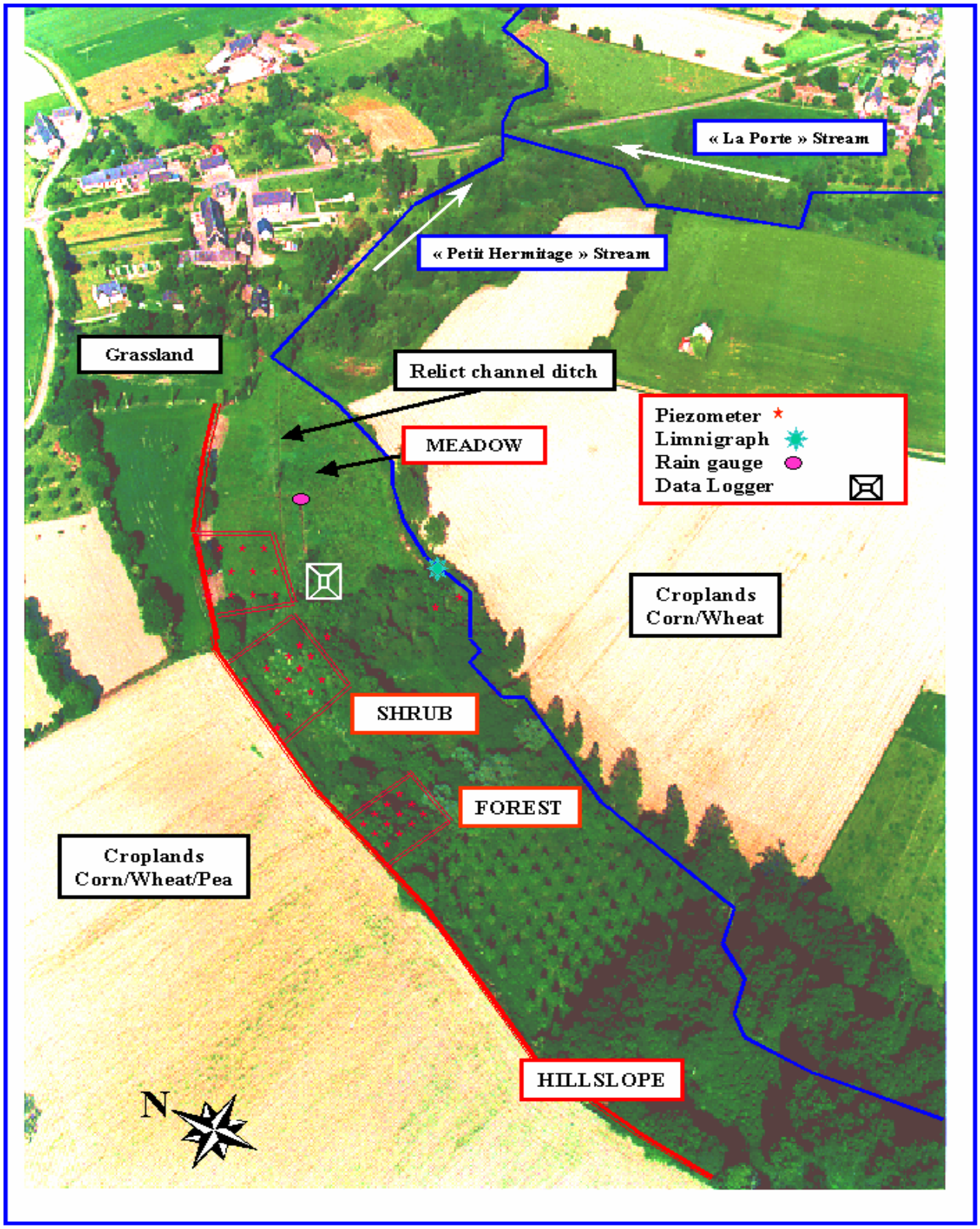


Figure 5: Aerial photo of the study site.

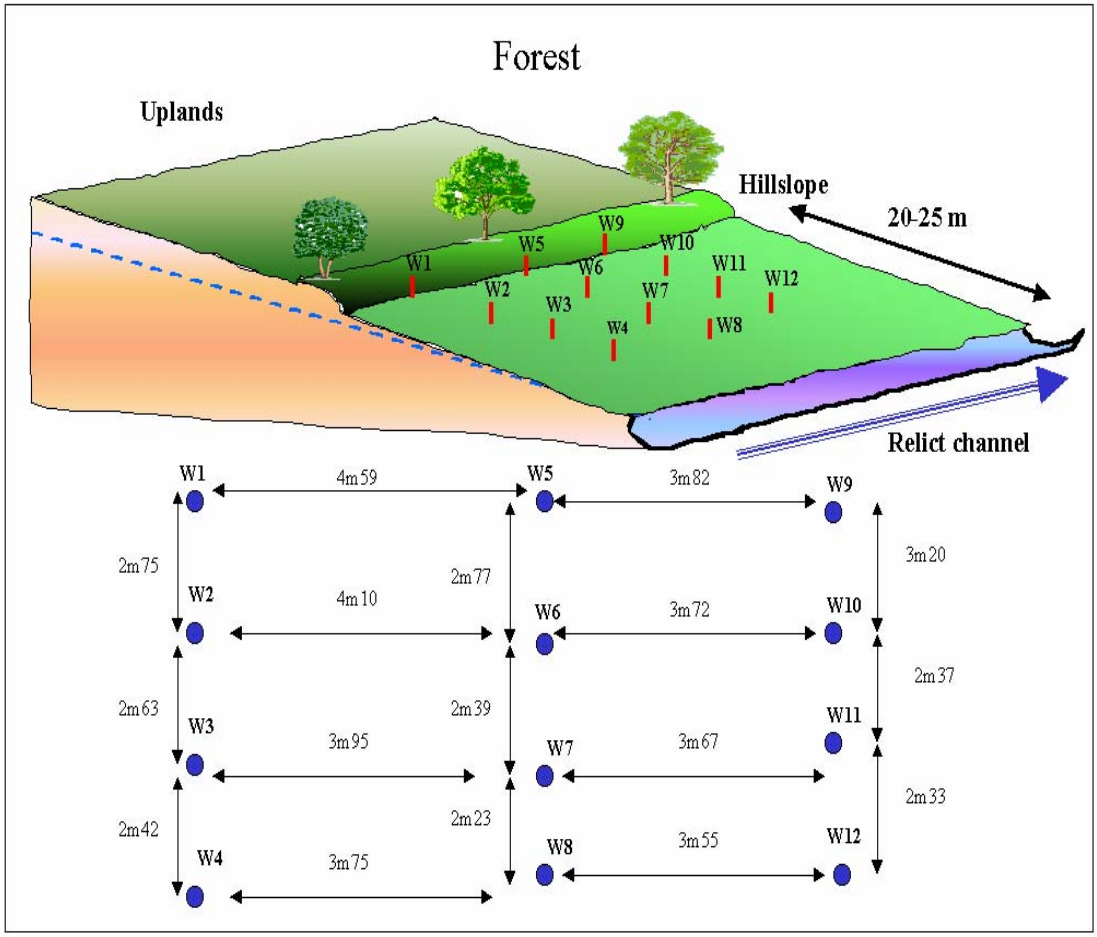


Figure 6: Piezometers location in the Forested site.

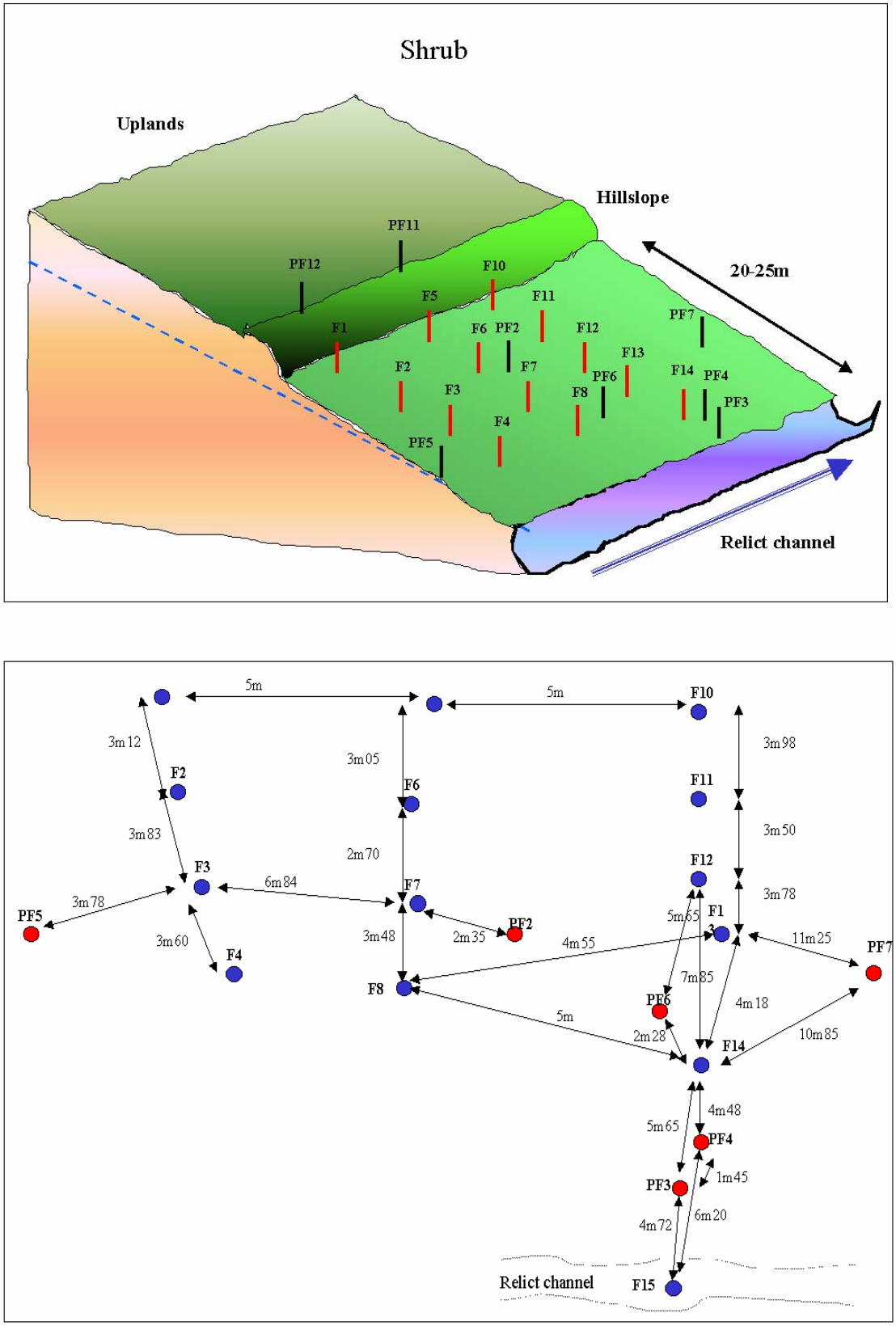


Figure 7: Piezometers location in the Shrub site.

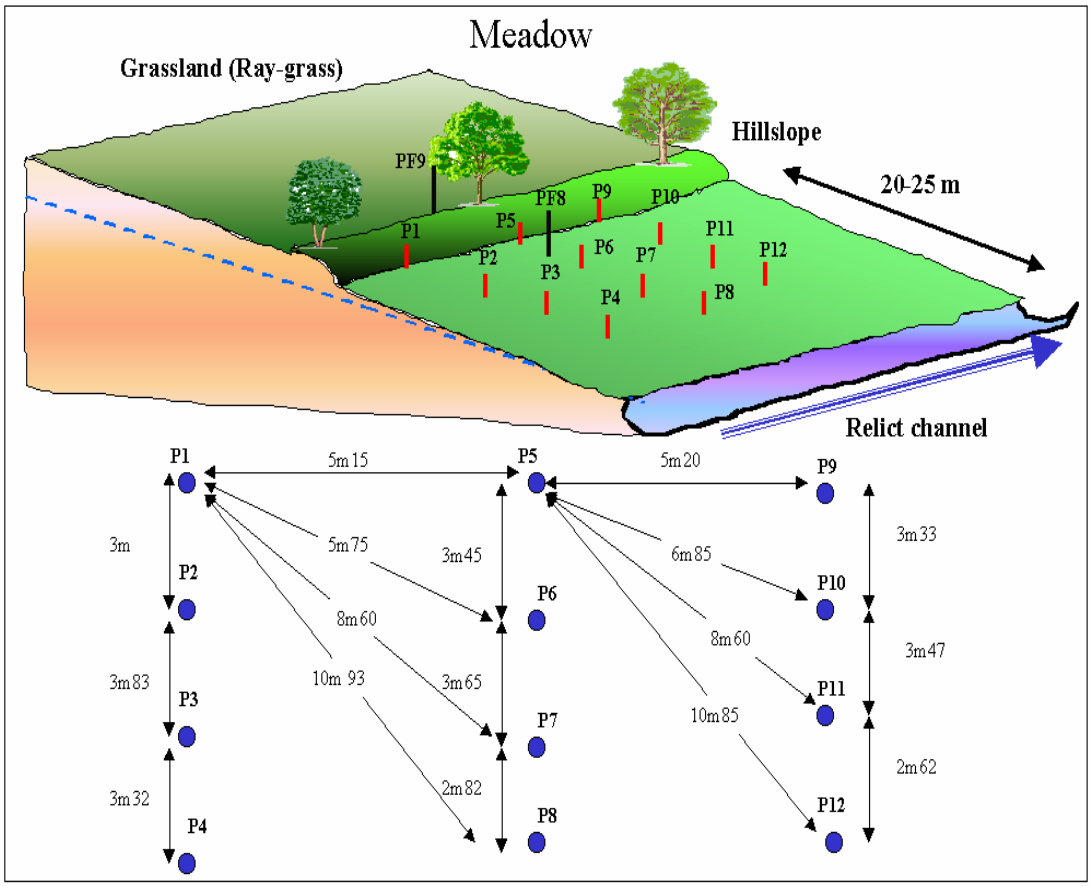


Figure 8: Piezometers location in the Meadow site.

VI – Floristic characterization of the study sites:
Forested site:

The tree strata consisted mainly of willows (*Salix. sp.*) (6 - 20 years old). However, a 70 year old oak (*Quercus sp.*) and 10 year old *Sambucus nigra* were present on the hill slope and their branches covered most of the forested study area. Concerning the herbaceous strata, the tree shade limited both the density and the number of species (Table 3). We delimited each study site into 3 zones, parallel to the slope and corresponding to the hydromorphic gradient. Zone 1 was the closest zone to the stream, Zone 2 was intermediate, and zone 3 was located at the upland–riparian interface (Figure 9).

Table 3: Floristic inventory of the forested study site. Numbers into brackets are abundance indices according Braun-Blanquet (Braun-Blanquet 1965). (5 = 75 à100%; 4 = 50 à75%; 3 = 25 à50%; 2 = 5 à 25%; 1 = <5%, + = few)

Zone 1 (Stream side)		Zone 2 (mid)		Zone 3 (hill slope)	
Phalaris arundinacea	4	*Urtica dioica*	4	*Rubus fruticosus*	4
Urtica dioica	3	*Hedera helix*	4	*Urtica dioica*	4
Hedera helix	2	*Rubus fruticosus*	2	*Hedera helix*	3
Angelica sylvestris	2	*Oenanthe crocata*	1	*Polypodium vulgare*	2
Ranunculus repens	2				
Rubus fruticosus	1				
Oenanthe crocata	1				
Rumex crispus	1				
Glyceria fluitans	1				
Cardamine sp.	1				

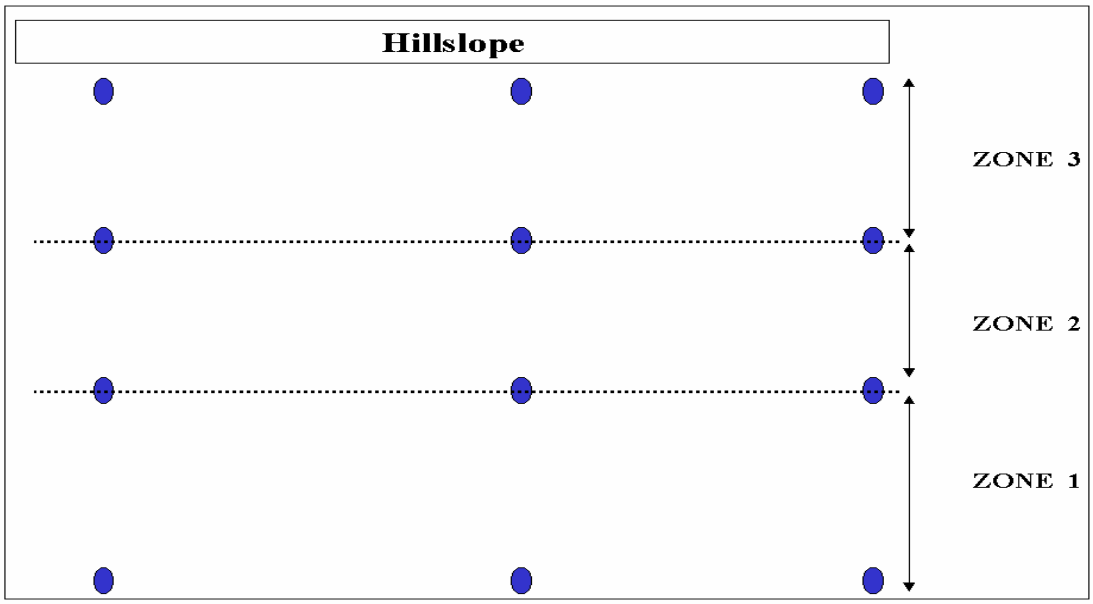


Figure 9: Zone 1, 2, and 3 location. Full circles represent the 3 X 4 grid of piezometers which was installed in each study site.

Shrub:

In this study site, 3 groups of plants could be delimited along the hydromorphic gradient from Zone 3 to Zone 1 (Table 4).

Table 4: Floristic inventory in the Shrub study site.

Zone 1 (stream side)		Zone 2 (mid)		Zone 3 (hill slope)	
Phalaris arundinacea	5	*Holcus lanatus*	4	*Rubus fruticosus*	5
Calystegia sepium	3	*Juncus effusus*	3	*Urtica dioica*	4
Symphitum officinale	3	*Polygonum amphibium*	3	*Calystegia sepium*	3
Agrostis stolonifera	3	*Symphitum officinale*	3	*Gallium aparine*	2
Gallium palustre	3	*Ranunculus repens*	2	*Polypodium vulgare*	2
Achillea ptarmica	2	*Agrostis stolonifera*	2	*Calystegia sepium*	2
Holcus lanatus	2	*Calystegia sepium*	2	*Holcus lanatus*	2
Ranunculus repens	2	*Filipendula ulmaria*	2	*Polygonum amphibium*	2
Polygonum amphibium	2	*Juncus acutiflorus*	2	*Ranunculus repens*	2
Filipendula ulmaria	2	*Lycopus europaeus*	2	*Symphitum officinale*	2
Oenanthe crocata	2	*Oenanthe crocata*	2	*Polypodium vulgare*	2
Veronica scutella	1	*Plantago*	2	*Urtica dioica*	2
Glyceria fluitans	1	*Ranunculus flamula*	1	*Ranunculus flamula*	1
Alnus glutinosus	1	*Juncus conglomeratus*	1	*Stachys palustris*	1
Salix sp.	1	*Achillea ptarmica*	1	*Stellaria holostea*	1
Juncus acutiflorus	1	*Angelica sylvestris*	1	*Epilobium tetragonum*	1
		Lychnis flos-cuculi	1	*Juncus conglomeratus*	1

Meadow:

Three zones can also be described in the meadow study site (Table 5).

Table 5: Floristic inventory of the Meadow study site.

Zone 1 (stream side)		Zone 2 (mid)		Zone 3 (hill slope)	
Glyceria fluitans	4	*Agrostis stolonifera*	3	*Holcus lanatus*	4
Alopecurus geniculatus	3	*Alopecurus geniculatus*	3	*Lolium multiflorum*	3
Polygonum amphibium	3	*Glyceria fluitans*	3	*Dactylis glomerata*	3
Agrostis stolonifera	2	*Holcus lanatus*	3	*Agrostis stolonifera*	2
Gallium palustre	2	*Juncus effusus*	3	*Ranunculus repens*	2
Juncus acutiflorus	2	*Gallium palustre*	2	*Calystegia sepium*	1
Juncus effusus	2	*Polygonum amphibium*	2	*Gallium aparine*	1
Ranunculus repens	2	*Lolium multiflorum*	2	*Juncus effusus*	1
Lycopus europaeus	1	*Ranunculus repens*	2	*Ranunculus flamula*	1
Lysimachia nemorum	1	*Lotus uliginosus*	1	*Rumex conglomeratus*	1
Myositis scorpioides	1	*Myosotis scorpioides*	1	*Urtica dioica*	1
Oenanthe crocata	1	*Oenanthe silaifolia*	1	*Rubus fruticosus*	1
Oenanthe silaifolia	1	*Ranunculus flamula*	1	*Eupatorium canabinum*	1
Ranunculus flamula	1	*Rumex conglomeratus*	1	*Glechoma hederacea*	1
Rumex conglomeratus	1	*Urtica dioica*	1	*Polygonum sp.*	1
Veronica scutella	1	*Calystegia sepium*	1	*Sonchus asper*	1
				Cirsium palustre	1
				Hypochaeris radicata	1
				Stachis palustris	1
				Scrophularia aquatica	1
				Cirsium vulgare	1
				Digitalis officinalis	1
				Tamus communis	1
				Epilobium tetragonum	1
				Teucrium scorodonia	1

VII – Pedology of the study sites:

The 3 study sites presented a similar soil profile with an upper organic horizon from 0 to –5 cm (Ag) which evolved into a brown-grey transitional hydromorphic horizon with ferrous oxidation spots along the root system (from –5 to –25 cm) (Figure 10). From –25 to –50 cm, the soil profile evolved into a grey pseudogley (g) with ferrous oxidation spots. Some roots could be found until –50 cm deep. Beyond this depth, the Gley horizon was temporary re-oxidised (Go) until –200 cm depth. Then, a reduced blue-grey horizon (Gr) was present and reached the geological substratum made of schist more or less altered. The insertion of the additional deeper piezometers within the study sites (PF2 to PF8) showed that the geological substratum could be as deep as 780 cm below the ground surface. Finally, it is important to note that some coarse sand veins (2-25 cm diameter) could be found between –100 and –200 cm depth (Regimbeau 1999). This is evidence of the presence of residual marine sediments that could be also linked with the eventual presence of some organic matter debris (Figure 10).

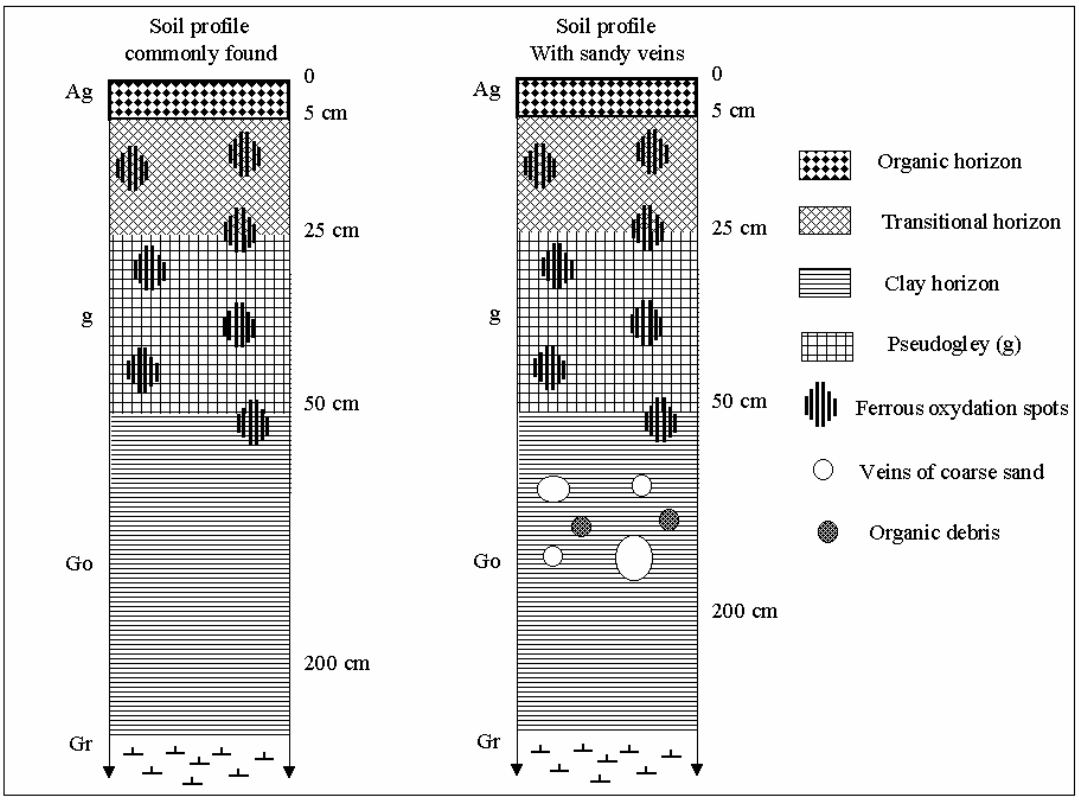


Figure 10: Soil profiles (adapted from (Regimbeau 1999))

The texture was loamy-clay in Ag, g and Go horizons, then loamy-sand in the deeper horizons. The structure became more and more massive with the depth, reducing the permeability, although it could be facilitated by some sandy veins. Bulk densities were measured in the first 25 cm and showed results between 0.45 and 0.70 $g.cm^{-3}$. The organic matter contents are about 10.6 % in average for the upper 25 cm, 3.9 % in average from –25 to –50 cm, and 2.7 % in average between –50 and –75 cm.

Les Zones Humides de Fonds de Vallée et la Régulation des Pollutions Azotées Diffuses.

METHODS:

I – HYDROLOGY:

(X;Y) Lambert II piezometers coordinates as well as the main landscape elements (stream, relict channel, hill slope, field borders…) were levelled using a Geographical Positioning System. We used also a "geometrist's sight" to have a centimetric precision with regard to the altitude. The coordinates were transferred on the 1992 property map using Vertical Mapper software (MapInfo). Altitudes were all referred to the sea level in Marseille.

Water table elevations were measured in each piezometer using a 10 metre long electric probe. Measurements were made between winter 1998 and spring 2000 from 1 to 5 times a month.

Soil hydraulic conductivity was measured using the "slug-test" method (Bouwer and Rice 1976, Fetter 1994). In a given piezometer, the water table was instantaneously lowered and the rate of recovery was monitored. Comparison between the experimental plot and some standard plots allows determining the aquifer transmissivity (T in m^2/s). Permeability can be deduced from the length of the investigated well. In the context of a free aquifer, the transmissivity varies as the thickness of the saturated sediments. The below-ground fluxes, which were controlled by this parameter and by the hydraulic gradient, were thus more important in high water periods than in dry periods. An approximation consists in considering that the characteristics of the aquifer were homogeneous along its length, which was a fair assumption considering our deep piezometers were limited by the substratum.

Tracing attempts were done using NaCl and NaBr as tracers and suitable probes (potentiometer with the sodium chloride and specific probe with sodium bromide). The first attempt (using NaCl) was made between wells which were separated by few centimetres and showed that, in general, groundwater flowpaths followed the slope and the transect distribution. The second attempt consisted in injection of a NaBr solution in a hill slope well and detection of its appearance in the further down wells of the transects using specific probes (Ionplus Series Bromide Electrodes) connected to a portable data logger (Campbell Scientific CR10X). Unfortunately, this attempt failed because of the much longer distances than in the NaCl study and the limited resolution of the probe.

Further information about the hydrology of the riparian zone and the different water sources contributing to the floodplain hydrology were obtained using chloride concentrations (Altman and Parizek 1995) and ^{15}N measurements in the groundwater (see Chapters I and III).

II – WATER ANALYSIS:

Water chemistry analyses were performed 2 times a month between winter 1998 and spring 2000. Water was extracted from the piezometers using a portable peristaltic pump; one well volume was pumped prior to sampling. The samples were filtered using 47 mm diameter glass-fib filters (Whatman GF/C). Water was maintained at 4°C in cool boxes in the field, and in the fridge in the laboratory. Analyses were performed within 24 h of collection.

- *Ammonium (NH_4^+)* (Solorzano 1969):

NH_4^+ reacts with phenol and NaOH hypochlorite in an alkaline solution to form indophenol-blue. The intensity of the reaction was proportional to the water NH_4^+ concentration. The reaction was catalysed using sodium nitroprusside reagent. The absorbance was measured at 635 nm using a spectrophotometer UVIKON$_{XS}$ (BIO-TEK Instruments). Distilled water was used for the auto zero. Standards were made for each set of measurements and allowed to transform the absorbance in concentration (mg N. L^{-1}).

- *Nitrite (NO_2^-)* (Barnes and Kolkar 1951):

NO_2^- concentrations were measured following Barnes and Kolkard's method (1951): in an acid solution (HCl) nitrite reacts with sulphanilamide and forms a component which reacts with α-naphtylethylenediamine to give a pink coloration. The absorbance was measured at 543 nm.

- *Nitrate (NO_3^-)*:

Nitrate was measured following two different methods which have been inter-calibrated:

1- Goldman and Jacobs's method (1961): water sample absorbance was measured at 220 nm and 275 nm. The dissolved organic matter was detected at 220 nm while nitrate was detected at 275 nm. The equation (DO_{220} - $2DO_{275}$) x 4.3 gives the nitrate concentration in mg N. L^{-1}.

2- Nitrate was analysed colorimetrically after cadmium reduction using a Technicon auto analyser (Technicon 1977) connected to a Jasco V-530 spectrophotometer with V-500 Manager software (Norme AFNOR. Dosage des nitrates, 1975).

- *Total N (Nt)* (Koroleff 1972):

Organic nitrogen and other forms of nitrogen were transformed to nitrate by mineralisation (120°C for 30 min) in a basic solution (NaOH) with potassium persulphate ($K_2S_2O_8$) as catalyser. Nitrate was then analysed following the NO_3 above mentioned method. Dissolved organic nitrogen content was calculated from Total N, Nitrate, Nitrite, and Ammonium concentrations.

- *Total Dissolved Phosphorus (Pt)*:

All dissolved forms of phosphorus were transformed to inorganic dissolved phosphorus by digestion (120°C for 30 min) in an acid solution (H_2SO_4, 4N) with potassium persulphate ($K_2S_2O_8$) as catalyser (Langner and Hendrix 1982). The inorganic phosphorus was analysed following the Murphy and Riley's method (Murphy and Riley 1962a, b), by reaction with molybdate solution and formation of phosphomolybdic complex which reacts with ascorbic acid to give a blue coloration. The absorbance was measured at 720 nm using a spectrophotometer

UVIKON$_{XS}$ (BIO-TEK Instruments). Standards were made for each set of measurements and allowed to transform the absorbance in concentration (mg P. L^{-1}).

- *Dissolved Organic Carbon (DOC)*:

Dissolved organic carbon was analysed using a SHIMADZU TOC - 5000/5000A.

Total carbon measurement (TC): the water sample was injected in a combustion chamber where it was burned and transformed into CO_2. The combustion chamber consists of an oxidation catalyser which was maintained at 680°C. Detection was made by a IR non-dispersive cell.

Inorganic carbon measurement (IC): The sample was injected in a chamber where it reacted with phosphoric acid (25%). The inorganic carbon was transformed in CO_2, and can be detected as above mentioned.

Finally, dissolved organic carbon was calculated from both the total carbon and inorganic carbon measurements.

- *Chloride (Cl^-)* (Clarke 1950):

Chloride concentrations were determined by a titrimetric method using a silver nitrate electrode and an acid acetic buffered solution with a Sherwood Chloride Analyser 926. Finally, pH, temperature and conductivity were measured using BioBlok Scientific Consort K911 probes.

III – SOIL ANALYSES:

The aim was to measure the rates of biological processes involved in nitrogen cycling in the three riparian sites, and the nitrogen availability in soil profiles.

Sampling location:

The three riparian sites (Forest, Shrub and Meadow) were divided in 3 zones roughly parallel to the hill slope according the previous floristic analysis (see Figure 9). Within each of these zones, 3 sampling areas were selected and, for each area, the sampling was done down the soil horizons to the low groundwater level (0-25 cm, 25-50 cm, 50-75 cm) (Figure 10).

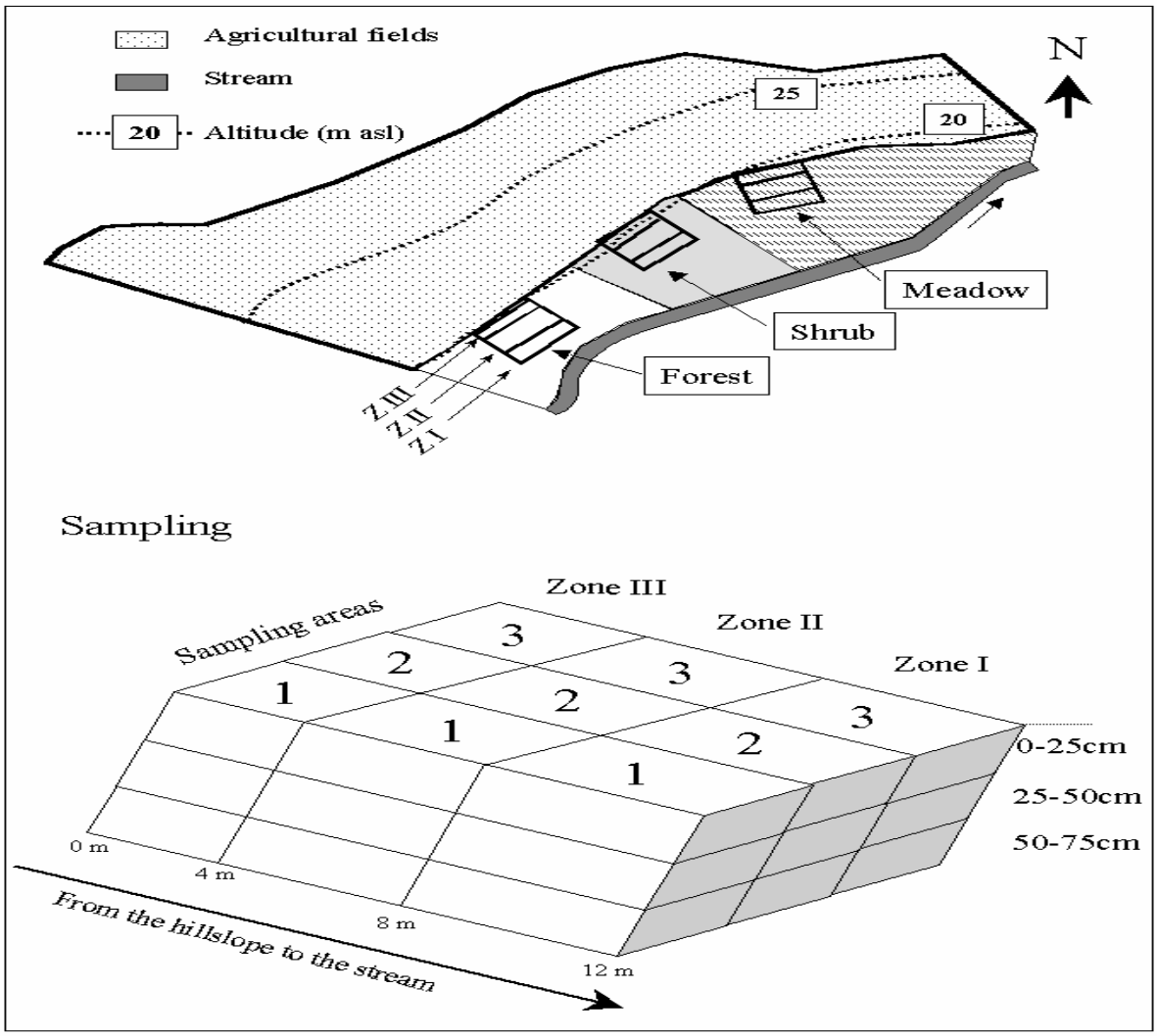


Figure 10: Location of the soil sampling areas within the three riparian study sites.

Every season, in each of the 9 selected areas within each site, 3 soil cores were taken at each depth and the litter, the roots and the stones were removed. These 81 soil samples were stored at 4°C and processed within 24 h.

pHw:

5 g of air-dry soil were weighed in a 50 ml beaker with an automatic shaker. 5 ml of distilled water were added to the soil sample. The slurry was mixed for 5 seconds and let stand for 10 minutes. The pH in water (pHw) was measured using a glass electrode inserted in the soil suspension.

Soil grain size:

10 g dry soil was sieved through a 2 mm sieve mesh. The soil was treated with 50 ml HCl (0.05N) and for 1 hour (salt leaching). Then, the soil was washed with 200 ml distilled water on a filter paper. After washing, the soil was placed into an Erlenmeyer flask with 200 ml distilled water + 4 ml of NaOH (1N) and boiled for 5 minutes (separation of clay). All the solution was then filtered through a 50 µ sieve. The fine material (clay and silt) was washed through and only the sand remained (fraction between 2 mm and 50µm). This fraction was dried again and weighed. Considering soil was 100% composed of sand + silt + clay, proportions of sand and fine material were then available.

Soil moisture content:

30 g of fresh soil were dried at 105°C for 48 h. The percentage of water was calculated in regards with the dry mass:

(Fresh mass – Dry mass (105°C)) / Dry mass (105°C)) x 100.

Organic matter:

Soil samples were dried at 105°C for 48 h, and then heated at 550°C for 4 h.
The percentage of organic matter was calculated as follows (Ball 1964):

OM% = ((dry mass (105°C) – dry mass (550°C)) / dry mass (105°C)) x 100.

Soil inorganic nitrogen:

Twenty grams (fresh mass) of each soil sample were extracted with 100 ml of K_2SO_4 (35 g per litre). The extract was filtered and analysed for NH_4-N and NO_3-N with a Technicon Auto-analyzer (1977). Nitrate was analysed colorimetrically by the Griess-Ilosvay method (Keeney and Nelson 1982) after reduction by percolation on copperized cadmium column. Ammonia was analysed colorimetrically also with the Indophenol Blue Method (Solorzano 1969).

Extraction procedure

20 g of fresh soil

↓

add 100 ml K_2SO_4 (dilution 35g to 1 litre distilled H_2O) in plastic, capped bottle

↓

shake for 1 hour

↓

filter c 20 ml into glass bottle

↓

analyse NO3, NO2 and NH4

Dissolved organic nitrogen:

Dissolved organic N was measured on the K_2SO_4 soil extract. The organic N of soil extract was oxidized with potassium persulphate at 120°C to nitrate. The nitrate obtained was then measured by the inorganic N colorimetric procedure above mentioned. Measurement of the dissolved organic N before and after fumigation allows the organic N released by the bacteria pool to be evaluated.

Persulphate oxidation

Make 500 ml of fresh solution
25 g $K_2S_2O_8$ (potassium persulphate)
15g H_3BO_3 (boric acid) and 7.5 g NaOH (3.75 M (as tablets))
500 ml distilled H_2O

↓

to 5 ml of this solution add 5 ml of K2SO4 filtrate in a test tube

↓

shake

↓

autoclave at 120ÞC for 30 mins

↓

Analyze for nitrate

Total organic nitrogen and total organic carbon:

Analyses were performed using a CHN auto-analyzer (Perkin Elmer series II CHNS/O Analyser 2400).

Net nitrogen mineralisation:

Mineralisation rate was calculated from measured changes in the mineral-N content of largely undisturbed soil isolated inside polyethylene bags allowing air to pass through but preventing leaching. After one month of incubation in the field nitrogen content (nitrate, nitrite and ammonia) in the incubated bags were compared to the soil content at the beginning of the incubation. Net nitrification was estimated from measured changes in the NO_3-N content during exposure in the same incubated soil samples. Net ammonification was calculated from measured changes in the NH_4-N content during exposure in the same incubated soil samples.

Nitrogen microbial immobilisation:

Bacterial N was estimated using a simplified version of the Jenkinson & Poulson (Jenkinson and Poulson 1976) fumigation procedure. This method was based on chloroform fumigation, followed by immediate extraction with K_2SO_4 (35 g l^{-1}) and measurement of total N released by chloroform in the soil extract (Brookes et al. 1985). The concentration of total N released was measured by using the above mentioned persulphate oxidation method.

Fumigation procedure

20 g of fresh or frozen soil

↓

into fumigation chamber for 24 hrs,
with chloroform ($CHCl_3$)

↓

remove fumigated soil
for extraction procedure

Nitrogen mineralisation potential (NMP):

NMP was determined on fresh subsamples by anaerobic incubation (Waring and Bremner 1964). 15 grams of fresh soil were placed in a 50 ml beaker which was filled up with de-ionised water and sealed. This beaker was then placed in a dark incubator for 7 days at 40°C. Rapidly the pre-existing free oxygen was consumed and then the incubation was done under anaerobic conditions. This prevents any nitrification of the mineralised organic N and prevents also its disappearance through denitrification. Hence, the mineralised organic N accumulates as ammonia. Ammonia concentration was measured following the inorganic N procedure. The difference between the ammonia concentration contained in the fresh soil and after the anaerobic incubation gives the amount of organic N mineralised. This allows relative comparisons of organic matter degradability.

Denitrification:

Bibliography of the static core acetylene block method:

Denitrification is the microbial reduction of nitrogenous oxides to gaseous nitrogen (Tiedje 1982):

NO_3^-	→	NO_2^-	→	[NO]	→	N_2O	→	N_2
Nitrate		nitrite		nitric oxide		nitrous oxide		dinitrogen

Though dinitrogen is the ultimate end-product, in soils the process is often partially inhibited before complete reduction has occurred, resulting in release of nitrous oxide to the atmosphere. Addition of acetylene to the soil, however, can result in a complete inhibition of nitrous oxide reduction to dinitrogen (Yoshinari and Knowles 1976). Therefore the production rate of nitrous oxide in the presence of acetylene is commonly used as a measure of denitrification activity in soils. The general steps when measuring denitrification activity in the presence of acetylene are:

Partially fill a vessel with soil
↓
Seal the vessel and add acetylene (usually 10-15% v/v)
↓
Incubate the soil and vessel
↓
Sample gas from the vessel headspace over time to determine the nitrous oxide emission rate
↓
Determine the nitrous oxide concentration of each gas sample using gas chromatography

Note that acetylene from a cylinder can contain contaminants (Tiedje 1982), such as acetone and carbon monoxide, which should be scrubbed from the gas before use by passing it through a solution of cupric chloride in concentrated hydrochloric acid, and then water (Walter et al. 1979). An alternative is to produce acetylene from the action of water on calcium carbide, which does not produce significant quantities of either substrates for denitrifiers or denitrification inhibitors (Hyman and Arp 1987, Tiedje et al. 1989). During acetylene addition the chamber should be vented to maintain atmospheric pressure.

Though the basic technique is simple to perform, an appreciation for the errors inherent in the technique are fundamental to deriving meaningful results.

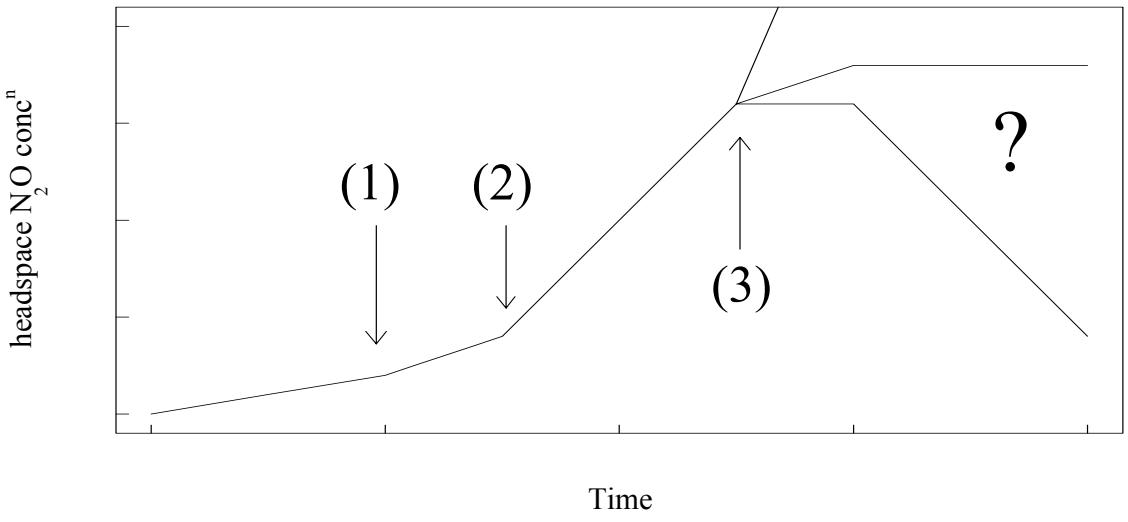


Figure 11: General pattern of nitrous oxide emission from a soil sample, before and following acetylene addition (1), when the major source of nitrous oxide is denitrification.

In soils where nitrous oxide is primarily a product of denitrification, emissions should increase linearly until acetylene addition (Figure 11). Following addition of acetylene (1), denitrification produces only nitrous oxide, so the rate of nitrous oxide production increases until inhibition is complete (2). Therefore determination of the nitrous oxide production rate following point (2) should give an accurate measure of denitrification activity in the soil. The rate of nitrous oxide emission can be determined simply by sequential sampling of gas from the chamber headspace through a septum using a syringe and needle. It is important to note that because inhibition following acetylene addition is not instantaneous (curve between 1 and 2), the rate of emission should be determined from the point when inhibition is complete. The nitrous oxide concentration immediately following acetylene addition is often used as the starting point. For long incubations this may make little difference, because inhibition may reach completion after only, for example, 15 minutes. For short-term incubations of, for example, a few hours, this lag may be critical. Because analysing gas samples is time consuming and expensive, the number of samples taken from the chamber headspace to determine linearity is usually kept to a minimum. Though at least three points are needed to demonstrate that emissions have reached linearity, knowledge of the technique and experience of the soils used may make it acceptable to take only two samples, provided that the experimenter is sure of the time taken for acetylene inhibition to reach completion. It should be noted that acetylene inhibition will reach completion at different times in different soils, dependent on the soil sample size, soil water content, etc.

Following complete inhibition linearity will not continue for ever (3). Incubation for longer than a few days may result in the biodegradation of acetylene (Terry and Duxbury 1985), or the exhaustion of the nitrate source for denitrification, because acetylene inhibits nitrification, too (Hynes and Knowles 1978, Walter et al. 1979). This can be a serious problem in soils where nitrification and denitrification are ‘coupled’, that is, any nitrate which is produced is immediately denitrified. In these cases, acetylene addition will immediately decrease nitrous oxide emission because of an inhibition of nitrate production by nitrification. This may be a problem in some waterlogged soils, such as lake sediments (Knowles 1979) and salt marshes

(VanRaalte and Patriquin 1979). Homogenisation of soil samples prior to the determination of denitrification activity can also increase carbon availability or change the soil oxygen status, which are important controls on denitrification (Tiedje et al. 1989).

Acetylene can also decrease nitrous oxide emissions from agricultural soils where a substantial amount of the nitrous oxide produced may be a by-product of nitrification (Lipschultz et al. 1981), an important source of nitrous oxide from drier soils. This is only a problem if the initial rate of production is to be related to denitrification activity, for example, to work out the ratio of denitrification products (N_2:N_2O). If the nitrous oxide production rate from denitrification prior to acetylene addition is required, the rate of nitrous oxide production from nitrification can also be determined using a modification to the acetylene inhibition technique (Davidson et al. 1986).

So, longer incubation periods are not necessarily better than shorter periods. A gas chromatograph fitted with an electron capture detector should be able to easily detect all but the lowest rates of nitrous oxide production over incubation periods of a few hours or even less. In fact, longer incubation times may not reflect denitrification activity because of other measurement effects. Though denitrification activity in a soil sample may be constant over a period of time, sealing the sample in a chamber may not result in a constant rate of nitrous oxide emission over that period (Figure 12). This may be caused by a decreased concentration gradient between the air and the soil decreasing the rate of gas diffusion from the soil surface to the atmosphere (Linvingston and Hutchinson 1995), though decreases in carbon dioxide and methane emissions from soils over the longer-term have also been attributed to a release of inhibitory substances into the chamber headspace (Magnusson 1993). Chambers with a small volume: soil surface area (or soil volume) ratio are more susceptible to this error. Therefore it is important to fully determine the impact of a chamber design on trace gas flux from any soil types used in a study.

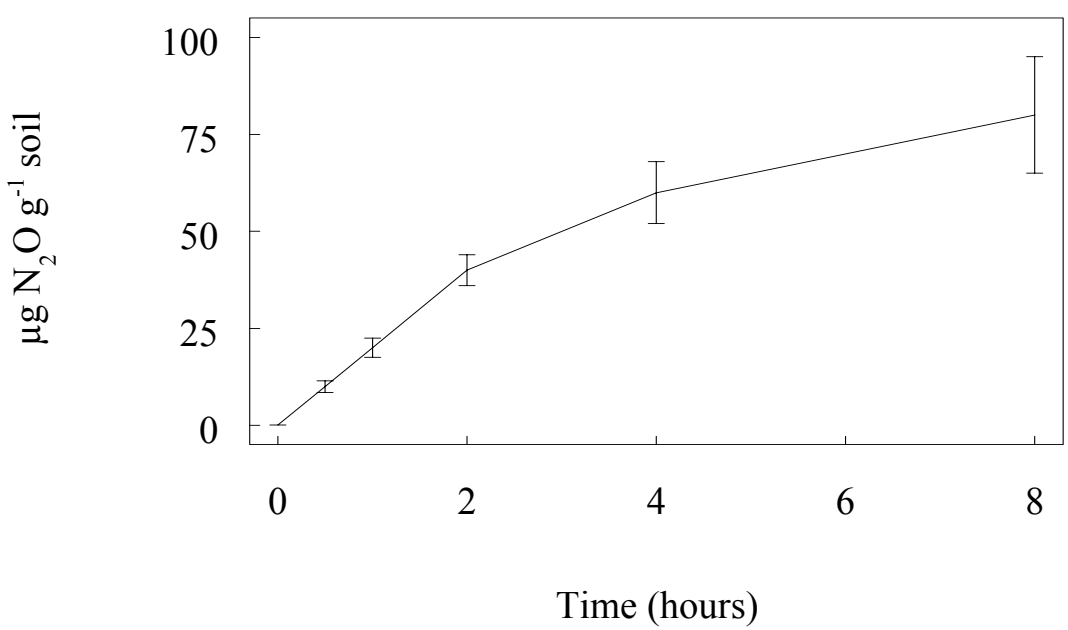


Figure 12: Nitrous oxide emissions from soil incubated inside a sealed chamber over an eight-hour period.

To sum up, in studies on soil microbial denitrification it is important to:

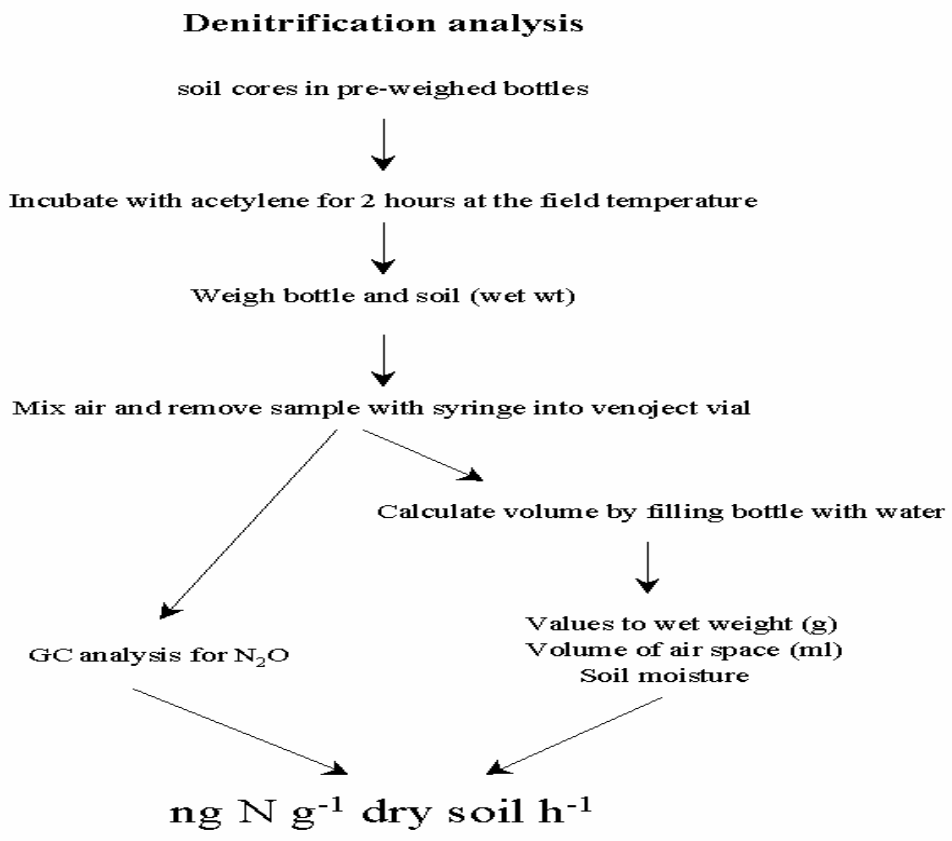
- Consider the time taken for acetylene to diffuse into the soil and inhibit N_2O reduction when determining rates of denitrification activity.
- Incubate soils in the presence of acetylene for short time periods (up to a few hours) rather than long periods (many hours or days). This will minimise both the effects of long-term acetylene exposure on the soil microorganisms and any decrease in the rate of trace gas emission caused by sealing soil samples in chambers. If samples need to be incubated for, say, a day or two prior to determination of denitrification activity, bottles can be incubated uncapped, then capped, acetylene added and the rate determined within a few hours.

These are not strict rules, it is often possible to incubate soils in the presence of acetylene for a number of days with little ill-effect. However, an increased awareness of the problems associated with determining soil denitrification activity will not only give better results, but also minimise the amount of work required to perform the assay.

Given these indications concerning the determination of soil denitrification rates, we decided to investigate this biological process as follow.

In situ denitrification:

In situ denitrification (DNT) was assayed by the static core acetylene inhibition method (Yoshinari and Knowles 1976).



Three soil subsamples (ca. 100 g of wet soil) collected from each of the 27 soil samples were capped with rubber serum stoppers and then amended with acetone-free acetylene to bring soil atmosphere concentration to 10 KPa (10 % V/V) acetylene and 90 KPa air. Samples were incubated at field temperature, and denitrification rates were calculated as the rate of nitrous oxide (N_2O) accumulation in the head space between 0 and 2 h. Head space samples were removed from all cores and stored in evacuated collection tubes (Venoject, Terumo Scientific N.J.). Gas samples were analysed via gas chromatography (GC Chrompack CP 9001) equipped with an electron capture detector (ECD ^{63}Ni) and Porapak Q columns (2 m long filled columns).

Denitrification enzyme activity:

Potential denitrification was measured at each of the 27 sampling sites using Smith and Tiedje's procedure (Smith and Tiedje 1979). Four sets of subsamples (slurries) from each of these 27 samples were made anoxic by flushing with N_2 and incubated for 8 h with acetone-free acetylene to bring soil atmosphere concentration to 10 Kpa (10 % V/V) acetylene and 90 KPa air at mean soil temperature. One set of 3 subsamples was amended with nitrate (10 µg NO_3-N.g^{-1} fresh soil) and referred to as ANAn. A second set of 3 sub-samples is amended with C (4 mg C-glucose g^{-1} fresh soil) referred to as ANAc. A third set of 3 sub-samples was amended with C + N (10 µg NO_3-N.g^{-1} fresh soil and 4 mg C-glucose.g^{-1} fresh soil), referred to as DEA. The last set of 3 subsamples was only incubated with acetylene N_2 atmosphere and referred to as ANA. Denitrification rates were calculated as the rate of nitrous oxide (N_2O) accumulation in the head space between 4 and 8 h. Nitrous oxide was measured with a gas chromatograph as above mentioned.

Natural N_2O emission:

Measurements were made by using a PVC gas chamber driven 5 cm into fallow soil. Gas flux from the soil surface was determined by sampling triplicates of the headspace air of the chambers after 4 hours of incubation. Gas samples were collected by syringe through a septum and analysed by gas chromatograph for N_2O.

IV – VEGETATION:

The 3 research sites were divided into 3 zones following the zones of the floristic inventory (see study site descriptions).

A - Plant productivity in the Meadow and the Shrub:

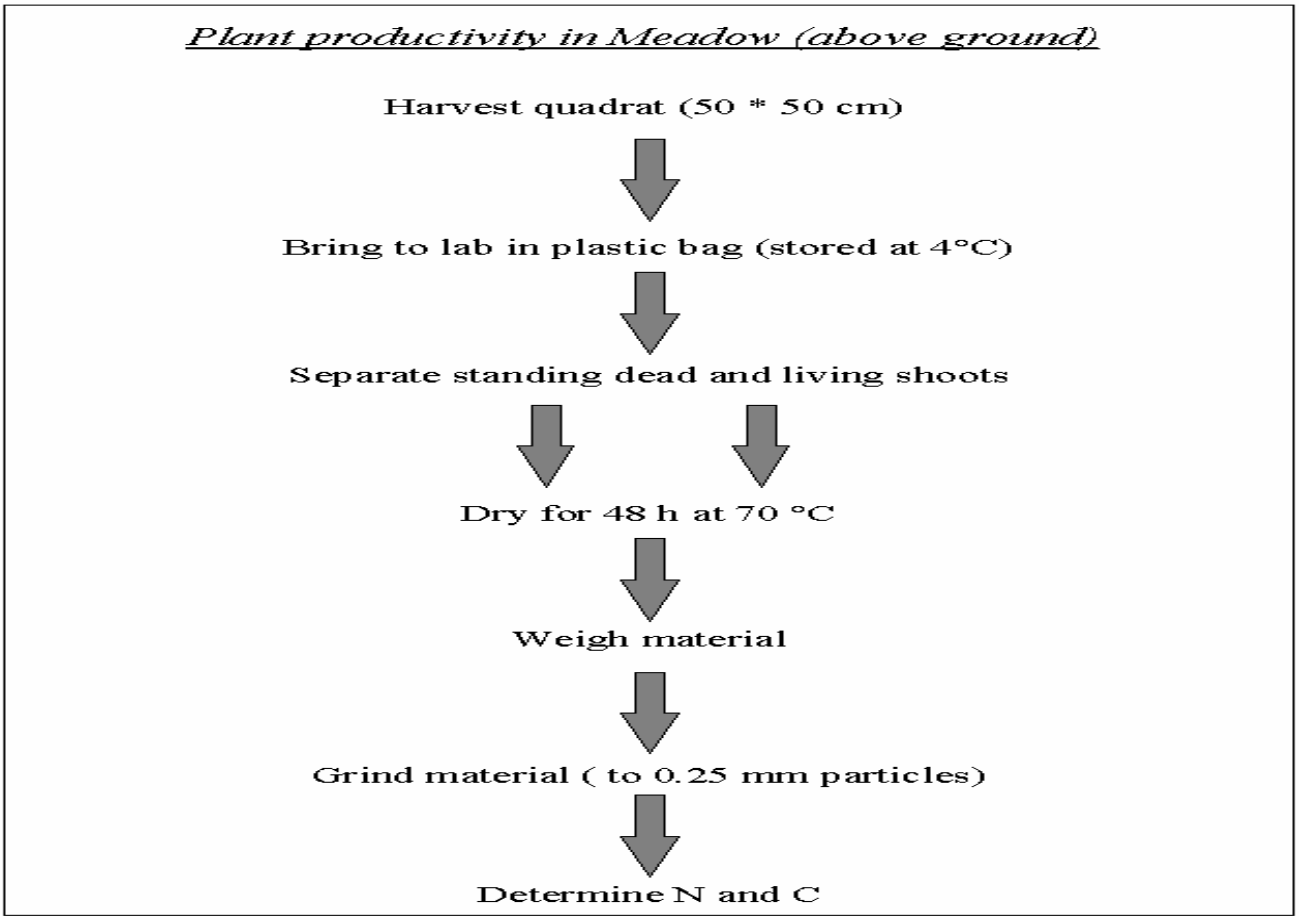
Principle: Production of low-structured vegetation was determined by sequential sampling above-ground plant material in the field and calculating the increase between sampling dates. Similarly, nutrient uptake can be estimated from increases or decreases in nutrient content of living and dead plant material.

Sample site: Size of the quadrats was 50*50 cm. Minimal number of quadrats per zone was 5.

Sample frequency: Plant production measurements took place three times per year: once in early spring before the growing season starts, once late in summer, the period of maximum standing crop, and once late in autumn. The sampling times were in June 1999, late August 1999 and November 1999. It was assumed the plants die or have no production in the winter.

Procedure: A U- frame was carefully placed in a representative part of homogeneous vegetation. After deciding which plants were included and excluded, the U- frame was closed to form a square. The size of the sampling quadrat was chosen according to the vegetation type and goal of the study. The above-ground biomass was harvested by cutting the shoots at the soil surface within the frame. The samples were stored at 4°C, and the shoots were sorted into dead and living material. Samples were weighted after drying for 48 h at 70°C. Sorting and drying was done within a few days after sampling. The harvested quadrat was marked, to be sure not to harvest this quadrat again.

Blackberry bushes (*Rubus fructicosus*) Within blackberry bushes (Shrub site, Zone 3), 5 permanent quadrats ($1m^{2)}$ were established. These quadrats were not harvested but observations on shoot production were made. Only new (present year) shoots with a growth basis within the quadrat were counted and length and diameter were measured. These shoots were marked and numbered. Outside the quadrat, but close to it, 10 fresh shoots were measured (length, diameter and dry weight) and clipped for analyses on N and C using a CHN analyser Perkin Elmer series II CHNS/O Analyser 2400. From regressions between length, diameter and dry weight estimates can be made on production of biomass in the permanent quadrats.



Calculations: Calculate biomass in g/m², from the dry weights and the area of the sampling quadrat. (Significant) increases or decreases in dead and/or live biomass (Living and Dead) between sampling dates (period was t) make up production according to the following decision rules (McClaugherty et al. 1982):

LIVE BIOMASS	DEAD BIOMASS	PRODUCTION
increase	increase	(δ Living +δ Dead)/δ t
increase	decrease	δLiving/δ t
decrease	increase	(δLiving + δ Dead)/δ t or 0
decrease	decrease	0

Note that production cannot be negative. Total annual production was a summation of production values for each sampling period. Reference values can be found in Brinson et al. (1981).

Yearly nutrient losses in litter can be calculated by multiplying litter production with the nutrient concentration in freshly formed litter. Retranslocation efficiency can be calculated as a percentage of nutrient concentrations in living plant material:

$$((N_{living} - N_{dead})/N_{living}) \times 100$$

B - Plant productivity in the Forested site:

Procedure: Above-ground biomass productivity of trees will be estimated as the sum of fine litter fall plus basal area increase (stem production).

Measurement of fine litter fall:

15 litter traps were placed along transects perpendicular to the stream, randomly located from one to five meter on either side of the transect (5 per zone). The litter traps (Figure 13) were supported about 100-150 cm above ground level. The traps were permeable to water to reduce moisture and decomposition in the litter traps (they were constructed from fine mesh screen).
Bags were suspended from hoops (Ovington and Murray 1964). The hoops were 50 cm in diameter.

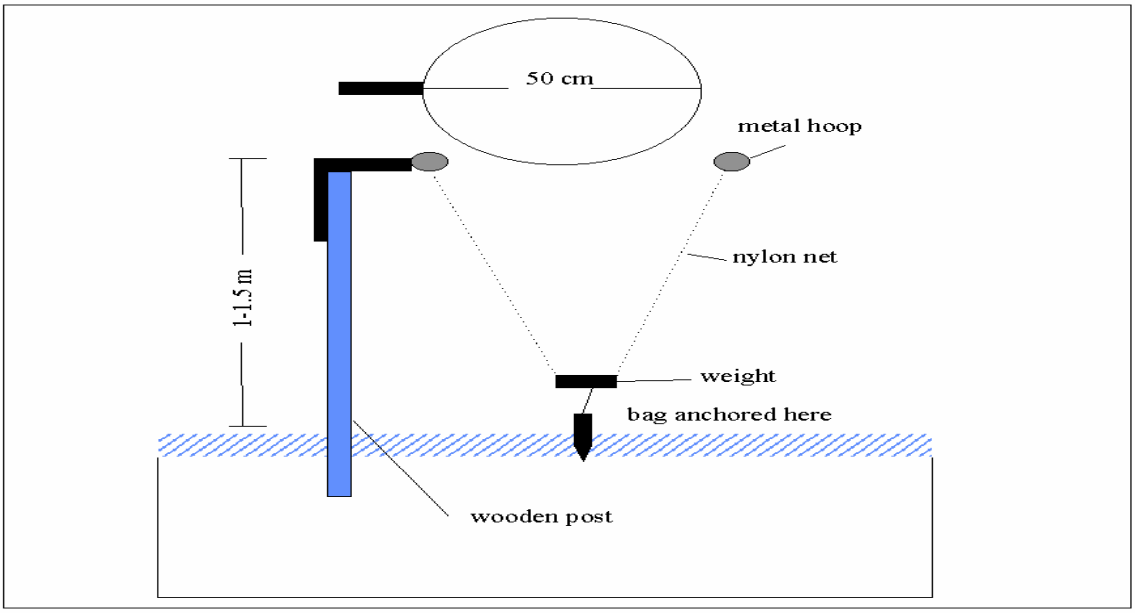
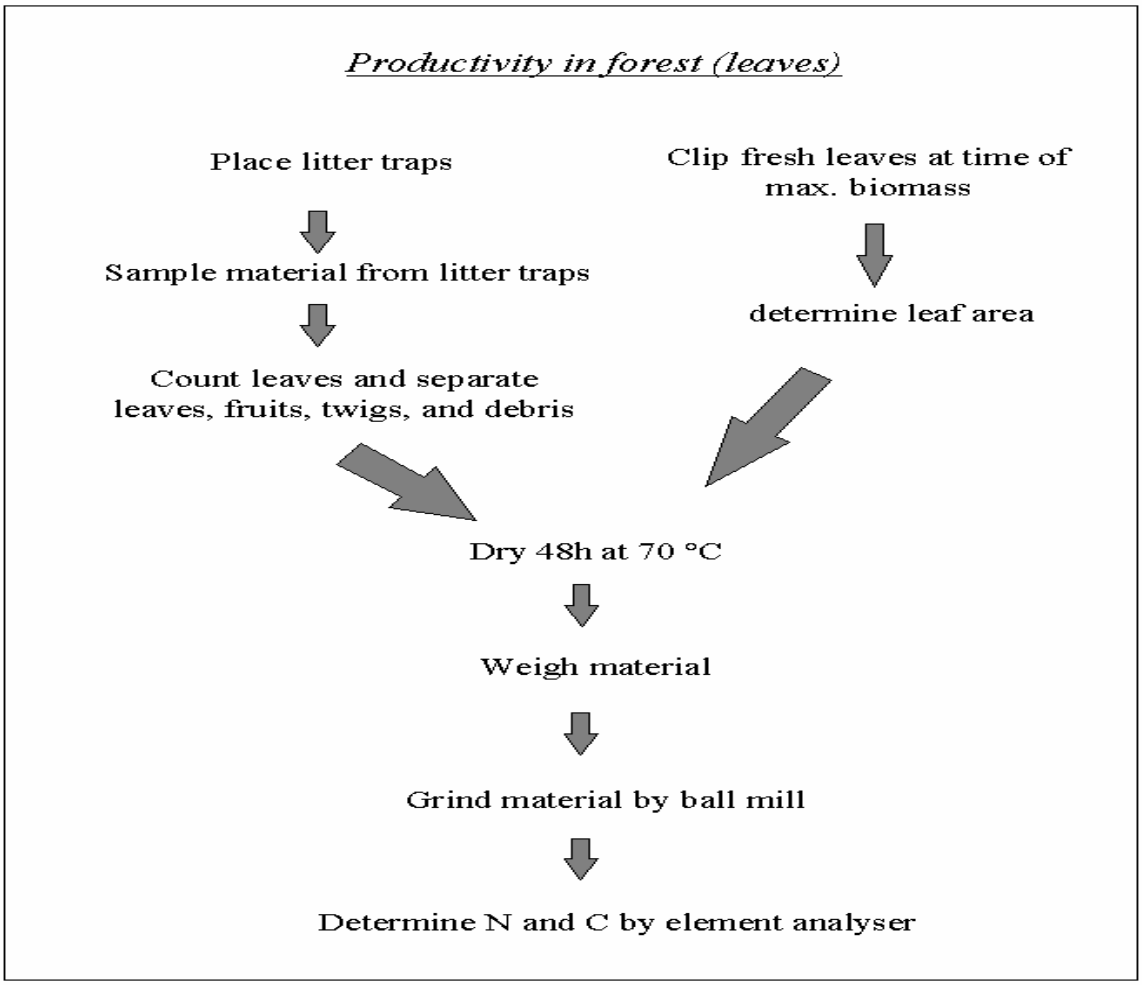


Figure 13: litter trap design.

Sampling of litter was fortnightly in spring and autumn, and monthly in summer and part of the winter. Samples were collected in paper bags until drying (70°C), weighing and analysing (see below). Before drying, the tree litter was sorted into type (e.g. twigs, fruits, leaves, and debris). The material was weighed after drying. Leaves, twig, fruits and debris were analysed separately for N and C using a CHN analyser Perkin Elmer series II CHNS/O Analyser 2400.

Fresh leaves:

Besides the analysis of leaves fallen into the litter traps, fresh leaves were analysed once.
Sampling of fresh leaves was done by hand. From each of the selected trees (see below) 10 shadow leaves were clipped at the time of maximum standing crop. After estimation of leaf surface, these leaves were dried at 70°C for 48 h and weighed, then ground for further analysis on N and C using a CHN analyser Perkin Elmer series II CHNS/O Analyser 2400.



C - Measurements of annual wood production

Selection of trees:

3 trees were selected in each zone of the forested study site. Increment cores with bark were sampled for growth analyses and nutrient concentrations. Annual rings were used to determine the age and the basal area increase of trees. Selected trees were cored in winter at breast height with an increment corer of 42 cm bit and 5 mm diameter. The hole was plugged with a wooden peg coated with fungicide. Duplicate cores were taken from each tree at right angles to each other. Cores were weighed, air dried and stored in plastic bags. At the time of analysis, cores were mounted in length and sanded with grit paper so that the rings were clearly visible. The average annual ring width for each core was calculated from the most recent five year increase (Chapman 1976). After counting the rings, cores were used for chemical analysis of the wood. Cores were dried (70°C) and separated into bark and wood; samples were ground prior to chemical analysis (see below).

Procedure:

Each tree was permanently marked for identification.
The breast height (130 cm above soil level) was permanently marked around each trunk with durable paint. Measurements were made once a year on all trees in the forested site (trees belonging to the shrub were not be included here).

The total tree height, and tree height to the first major branch was measured with optical apparatus.

Radius of trees at breast height (DHB) was measured with a steel diameter tape (Bcm).
As the form factor of the species concerned was known, and suitable volume tables were available (Whittaker and Woodwell 1968), bole volume was estimated from DHB and height. From increment cores (see below) radial wood increment and bark thickness were determined and related to the measurements of DHB and height. From these data it was possible to compute basal areas of wood plus bark (as was explained below).

Calculations:

Basal area increase (A_i) can be calculated using the following equation (Mitsch 1991):

$$A_i = B\,[r^2 - (r-i)^2]$$

where: r = radius of tree at breast height and i = mean radial increment per year (on the last five years).

Annual stem production per tree (P_i) calculated following Whittaker and Woodwell (1968).

$$P_i = 0.5\,\sigma\,A_i\,h$$

Where: σ = wood specific gravity and h = tree height.

Stem production for a measurement site can be estimated according to the following equation

$$P_w = \Sigma[P_i]*BA/B_c$$

P_w = site stem production (g/m^2 yr);
BA = average basal area per square meter of ground area, calculated for the entire site (m^2 (wood)/m^2 (site))
B_c = total basal area of the cored trees (m^2 (wood)).

D - Determination of decomposition using the litter bag method

Principle:

Decomposition was measured as weight-loss of plant litter from litter-bags. This loss was caused by fragmentation through action of climate and animals, by leaching of cell contents shortly after death, and by the conversion (microbial catabolism) of organic compounds into inorganic forms such as carbon dioxide and mineral nutrients (Swift et al. 1979).

Materials:

Litter bags (10 x 10 cm, polythene, and mesh sizes 0.3 mm).
Balance, capable to measure milligrams

Procedure:

For decomposition experiments, 5 replicates were taken per zone at 6 sampling dates for each study site. The sampling dates were: T= 0, 6 weeks, 3 month, 6 month, 12 month, 24 month. Both above-ground and below-ground decomposition rates were determined.

Above-ground material

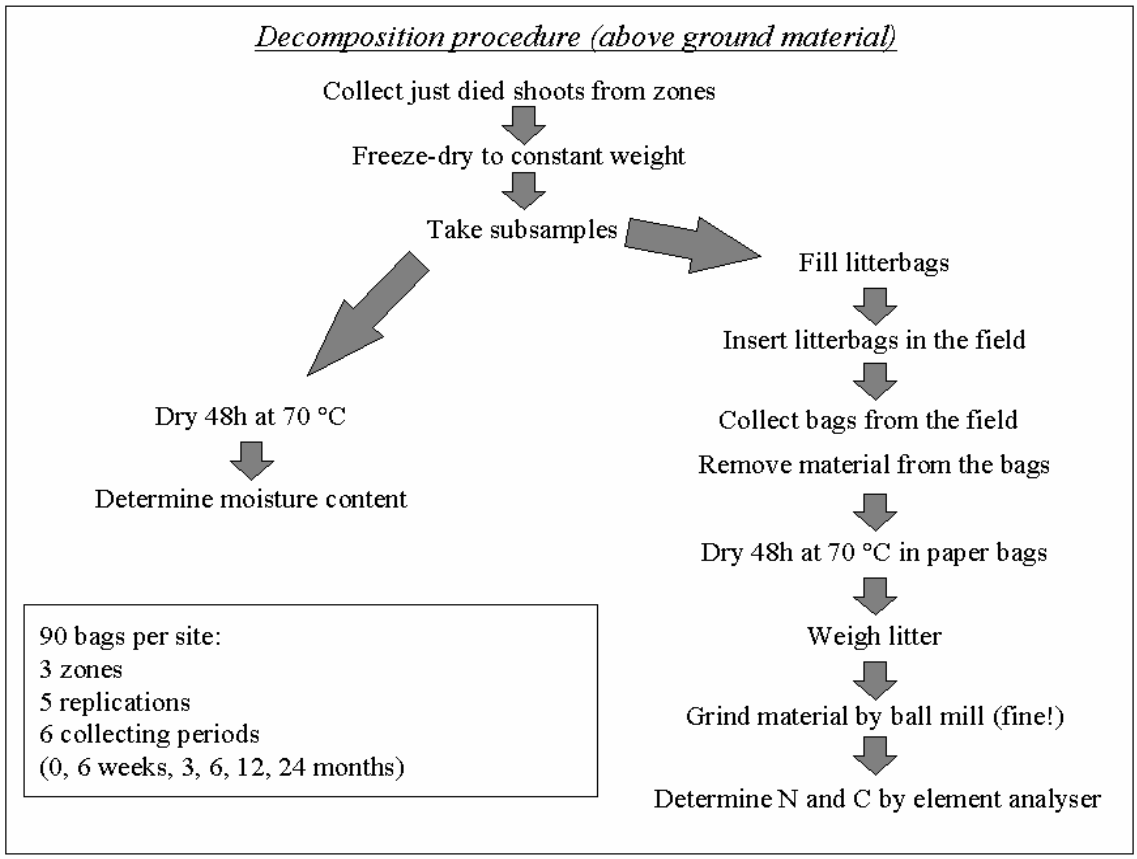
Meadow and Shrub study sites

Just dead plant shoots (standing dead) were collected for each zone in the first harvest period in autumn. The shoots were pre-dried at 30° C to constant weight in a ventilated oven for one week. Supplemental samples of the pre-dried material were re-dried at 70° C for 48 hours, in order to determine the ratio between initial dry weight and the initial air-dry weight. The material was cut in 5 cm pieces and filled in 30 litter bags per zone with a precisely known amount (1.000 or 2.000 gram) of air-dried plant material. The bags for each zone were tied into 5 groups of 6 units, a label was inserted with plot code and sample code in the bags which were then sealed.

They were placed back in the field on/in the soil litter layer, 6 bags grouped together (for each collecting date). The T=0 litter bags was brought back to the lab for analysis. To increase the chance of retracing the bags grouped bags were adjusted to a central pole with rope. At each collecting date, 5 bags were collected per zone and brought back to the lab for further analysis. In total: 90 bags = 3 zones, 5 replications, 6 collecting periods (0, 6 weeks, 3, 6, 12, 24 months) for each site.

Forest site

In the forested riparian site we used the mixed leaves which were collected in the litter fall traps, separated between the different zones. Leaves from the litter fall traps were pre-dried at 30° C to constant weight in a ventilated oven for one week. Supplemental samples of the pre-dried material were dried at 70 C for 48 hours, in order to determine the ratio between initial dry weight and the initial air-dry weight. The leaves were cut and filled in 3 * 30 litter bags with a precisely known amount of leaves (1.000 or 2.000 gram). The bags were sealed and placed back in the field on the soil litter layer close to where original samples were collected.



Comparison between NICOLAS sites:

To make a comparison between the decomposition rates of different NICOLAS country sites one series of litter bags with ”standard” plant material was incubated in each meadow site (zone 2). These reference bags were filled with material from *Phragmites australis*, collected in the Netherlands by Mariet Hefting. The 30 litterbags were filled with exactly 0.800g plant material in each bag. These 30 bags were grouped in 5 replicate groups, with 6 sample times (T=0, 6 weeks, 3, 6, 12, 24 month). Replicates groups were randomly distributed within the zone.
At each collection moment, one bag of each replicate group was taken. Thus, for each replicate group, one k-value can be calculated. With 30 bags, 5 k-values were obtained.
The sample treatment and chemical analysis of the reference litter bags was analogous to the treatment and analysis of the other litter bags.

Calculations:

The simplest and most used model to describe litter decomposition was a first order decay function (Swift et al. 1979):

$$W_t = W_0 e^{-kt}$$

where W_t is the amount of material remaining at time t, W_0 is the amount of material at time 0 and k is the decomposition rate constant. For easy calculation of the decomposition constant, this formula can be converted to a linear form:

$$Ln(W_t/W_o) = - k*t$$

in which W_t / W_o = the mass fraction of material left e.g. 0.8 when 80 % of the original weight remained. With this formula k values can be calculated from simple literature data (e.g. 50% of the material remained after one year)

The parameters indicating litter quality can be analysed on their effect on decomposition by regressing the K-values against the C/N ratios (calculated from N and C contents). Theoretical considerations about these controls were given by Parnas 1975 (Parnas 1975) and Berendse *et al* 1987 (Berendse et al. 1987).

Below-ground material

Root decomposition rates were estimated from one series of litter bags with "standard" root material incubated in Zone 2 in the Meadow site.

Materials:

5 sets with 4 litter bags with labels.
1 bundle of 10 cotton strips.

Procedure:

5 X 4 litterbags were inserted horizontally in the soil at 5 cm depth in the grassland site (Zone 2). The content of each bag was exactly 2.000 gram of root material (*Urtica dioïca*). As with the reference litterbags with leaves, the 5 sets of 4 bags were replications in space and one bag was collected from each set at 4 moments in time. Thus, for each replicate group, one k-value can be calculated.
The collection times were:

T0	Not inserted in soil	bag with about 2 gram of pre-dried roots
T1	6 weeks	5 replicate sets with 4 bags
T2	3 months	
T3	6 months	
T4	12 months	

The bags were inserted at 5 cm depth, there was a label tied to each bag to be able to find it. The bags were connected to a central pole with nylon wire as was done with the leaf litterbags.

Sample treatment and chemical analysis of all collected litter bags:

Attached soil particles, mosses etc. were carefully removed. The bags were opened and leaves, new roots and mineral material were removed from the litter. The litter was dried at 70° C for 48 h in paper bags. The material was removed from the bags and weighted accurately (mg).
N and C contents were determined by dry combustion, using a CHN-analyser Perkin Elmer series II CHNS/O Analyser 2400.

Cotton strips

The cotton strips were pure cellulose and were used to get an estimation of the cellulose decomposition rate at different depths at a certain moment in time (Harrison et al. 1988). These cotton strips were inserted vertical in the profile in a sawn slit (made with a knife or a straight shovel) to a depth of 10cm. The position of the soil surface at the strip was noted. These cotton strips were inserted at the same 5 spots as the root litter bags.

At the beginning of the incubation a second set of 5 strips was inserted and removed immediately to serve as a control. The set of 5 strips that were left in the field were removed after 4 weeks. After retrieval the cotton strips were washed with tap water without scrubbing and dried (air-dry). Each strip was cut in substrips at different distances from the soil surface and the cotton strip tensile strength of the substrips was determined at 70 % relative humidity using a tensiometer.

V – ^{15}N NATURAL ABUNDANCE:

Isotopic analyses were carried out on water samples collected on 4 dates: April 1998, August 1998, February 1999, and June 1999 from two riparian transects, one in the Meadow site and one in the Shrub site. Vegetation was also collected from the vicinity of wells in which isotopic analyses were performed. The vegetation sampling consists of harvesting leaves of 5 different plant species which were present along the transects in both riparian sites, to account for possible interspecific variability in ^{15}N uptake. The sampled species were *Glyceria fluitans*, *Holcus lanatus*, *Symphytum officinale*, *Urtica dioica*, and *Ranunculus repens*. The vegetation samples were dried (70°C for 48 h) and ground prior to isotopic analysis.

The water samples collected from the surrounding deep wells and the stream were also analysed for $\delta^{15}N\text{-}NO_3$. Water samples to be analysed for isotopic compositions of nitrate were processed using diffusion methods (Sigman et al. 1997, Holmes et al. 1998) :

- 500-1000ml was collected and filtered using Whatman GF/C. If NO_3^--N concentration was less than $1 mg.l^{-1}$ the sample was boiled to reduce the volume to 50 ml and increase the concentration.

- The 50 ml of filtered water was put into a diffusion bottle, 3g of NaCl was dissolved into the sample to remove the NH_4-N by alkaline diffusion by shaking for 1 hour.

- After 1 hour, 0.5 g of DeVarda's alloy was added to allow the reduction of nitrate to ammonium, 1g of MgO was also added to buffer the samples at pH ~9.7, causing NH_4^+ to convert to NH_3.

- Finally, an ammonia trap was added (filter pack: 1cm diameter GF/D filters (Whatman) acidified with 25µl 2M H2SO4 sandwiched between two 2.5cm diameter 10µm pore size Teflon membrane (Millipore LCWP 02500)) to fix the diffused NH_3.

- Then, the diffusion bottle was capped and shaken for 1 week in a room maintained at 40°C.

- After 1 week, the filter pack was removed, dried in clean desiccators and stored in clean scintillation vial until ^{15}N analysis by a coupled elemental analyser-isotope ratio mass spectrometer.

Analytical deviation of $^{15}N\text{-}NO_3$ was assessed using standards (4 µM and 1000 µM NO_3) and samples replicates. All ^{15}N samples were analysed by mass spectrometry after combustion of the sample to produce N_2. The isotopic composition of nitrate was measured using a Finnigan Delta S isotope ratio mass spectrometer, and the vegetation samples were analysed using a similar instrument (PDZ Europa, UK), both at the Stable Isotope Laboratory, Marine Biological Laboratory, Woods Hole, Massachusetts. As is conventional, nitrogen isotopic compositions was reported using "del" notation, where $\delta^{15}N=[(R_{SA}/R_{ST})-1] \times 10^3$and $R={}^{15}N/{}^{14}N$, expressed as ‰ deviation of the sample (SA) from the standard (ST) which is N_2 in atmospheric air ($\delta^{15}N$air = 0‰).

Running Head: Water sources and flowpaths in a riparian wetland.
Article Type: general research

CHAPITRE I

Hydrological Patterns and Processes within a Riparian Wetland

(Target journal: Journal of Hydrology)

Authors: Jean-Christophe Clément[1], Luc Aquilina[2], Gilles Pinay[1], Olivier Bour[2], Kristelle Plaine[2].
[1]U.M.R. 6553 – ECOBIO, Université de Rennes I, Avenue du Général Leclerc, F-35042 RENNES cedex, France. Tel 33 (0) 2 99 28 14 19 Fax: 33 (0) 2 99 28 16 17
[2] Geoscience, Université de Rennes I, Avenue du Général Leclerc, F-35042 RENNES cedex, France.
Jean-christophe.clement@univ-rennes1.fr
Gilles.pinay@univ-rennes1.fr
Luc.aquilina@univ-rennes1.fr
Olivier.Bour@univ-rennes1.fr
kristeplaine@netcourrier.com

INTRODUCTION

Intensification of agricultural practices such as overuse of fertilizers, enlarging fields, hedgerow removal and land drainage have substantially increased the nitrogen fluxes within agricultural catchments resulting in nitrate pollution of surface and ground waters. As a result, nitrate concentrations in public water supplies have often been raised above the limit of 50 mg L^{-1} NO_3^- set by the World Health Organization. In addition to the health risks, high nitrate concentrations create eutrophication and oxygen depletion in surface waters which can cause a number of problems including a loss of biodiversity, fish-kills, algae blooms…etc. However, many studies have demonstrated that groundwater nitrate concentrations often decrease substantially along riparian flow paths (Lowrance et al. 1984, Peterjohn and Correll 1984, Pinay and Décamps 1988, Cooper 1990, Haycock 1991, Groffman et al. 1992, Simmons et al. 1992, Jordan et al. 1993, Pinay et al. 1993, Lowrance et al. 1995, Groffman et al. 1996, Hill 1996, Hedin et al. 1998). The interface position of the riparian wetlands between upland and their draining rivers suggests that they can contribute to the regulation of water and nutrients transfer (Haycock et al. 1997). According to many studies, two main biological processes are involved in this groundwater nitrate removal: i) uptake by plants and microorganisms which represent a temporary retention, and ii) the microbiological denitrification which reduces nitrogen oxides (NO_2^-, NO_3^-) into gaseous forms (NO, N_2O, N_2) and, therefore, allows a real loss of nitrogen from soils and subsurface waters (Knowles 1982).

Many studies have shown that significant denitrification occurred in the soil surface horizon, since the necessary conditions are often met, i.e. presence of labile organic carbon, anaerobic soil conditions, and nitrate supply (Groffman et al. 1992, Lowrance 1992, Haycock and Burt 1993). As a result, the groundwater table must be close enough to the soil surface so that denitrification and uptake by vegetation can be effective nitrate removal mechanisms. Yet, most of the riparian zones located between agricultural fields and streams have been drained to extend agricultural activities. This drainage policy has accelerated the transfer of nitrogen compounds from uplands to the stream, and therefore increased in-stream nitrogen fluxes. Moreover, in the context of a natural riparian zone, groundwater table levels and flowpaths are mainly controlled by hydro geological conditions which are known to be complex, since numerous groundwater flowpaths may converge in the near-stream environment (Hill 1990, Mulholland 1992, 1993). Even if groundwater table elevation can be easily monitored, flowpaths remain difficult to determine, since water can travel *via* a variety of pathways resulting from both the floodplain sedimentology and the hill slope geology. This complex hydrogeology makes it difficult to evaluate N buffering capacities in these riparian zones. Hence, some studies have been conducted in aquifers where mixing of nitrate-enriched shallow subsurface water with low-nitrate deeper groundwater was obvious and resulted in nitrate concentration decline without nitrate retention (Altman and Parizek 1995, Pinay et al. 1998). In general, two main sources were identified as the end-members of the groundwater nitrate dilution, i.e. upland flow and stream water, although other water sources also have an influence on the riparian groundwater compartment: inflow from adjacent hill slopes, up-welling groundwater, inflow from the river channel *via* bank seepage or overbank inundation, and rainfall. Finally, although floodplain hydrology is a predominant factor controlling the nitrate buffer zone capacity (Haycock et al. 1997, Lowrance et al. 1997); yet only a small number of studies have investigated the different hydrological flowpaths existing within a riparian zone (Hill 1990, Waddington et al. 1993, Squillace 1996, Burt 1997) or have provided information about riparian water table movements (Haycock and Burt 1993, Mertes 1997, Burt et al. 1999). Spatial and temporal identification of discrete flowpaths is,

nevertheless, a compulsory first step in the understanding of how different water sources hydrologically interact in the riparian floodplain and influence the riparian nitrogen balance.

In this paper, we attempt to identify the different water sources and hydrological pathways occurring within a riparian wetland and contributing to subsurface water movement on an annual basis. Using water table fluctuation surveys and groundwater nitrate and chloride characteristics within an intensively monitored riparian study site, we provide insights into its hydrological organization. In Brittany (NW France), the riparian zones along stream order 1-2 have often been drained for agricultural purposes and mainly it is only those along stream orders 3-4 or above that remains. As a result we decided to focus our research on a riparian strip located along a 4th order stream which is typical of schist catchments in the study region and can be easily generalized. This study allows us to emphasize the seasonal evolution of each component of the floodplain water budget, and allows a generalised scheme of the hydrological functioning of these typical riparian zones to be described.

MATERIALS AND METHODS

Study area:

The study was conducted between Winter 1998 and Spring 2000 in a riparian ecosystem located along a 4th order stream (Petite Hermitage Creek) in north-west France (48°3N, 1.3°W), at an altitude of around 20 m above the sea level (Figure 1). The catchment drained by the riparian area was mainly agricultural with crops and grass fields for dairy and cattle breeding. Fertilizer application rates were high, about 200 kg N ha^{-1} y^{-1}, which resulted in elevated groundwater N-NO_3^- concentrations ranging from 10 mg N L^{-1} to 20 mg N L^{-1}. The upland-riparian boundary is characterized by a steep 2-3 m drop in elevation from surrounding fields into the riparian ecosystem. The wetland was about 80 m wide from the hill slope to the stream (Figure 1).

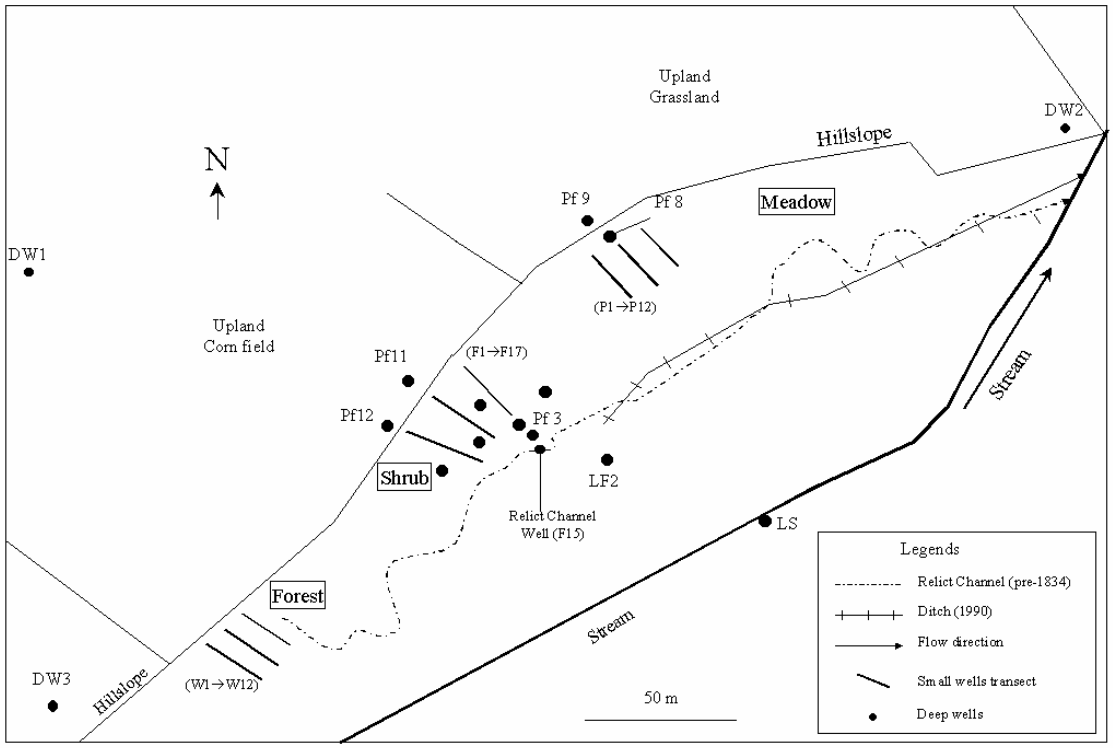


Figure 1: Map of the study area and location of the piezometers within the riparian study site.

A relict channel, roughly parallel to the stream and 30 m from the upland-riparian interface, was flowing in high water period and drying during summer. The use of 1834 and 1992 property maps shows that the relict channel has been straightened in a ditch within the Meadow (Figure 1). The stream has also been straightened along the southern border of the wetland. During high water periods, the relict channel crossed the Meadow towards the eastern part of the riparian area, and flowed into the stream.

Within this wetland ecosystem, we selected three upland-wetland transects differing in their vegetation cover: a Meadow, a Shrub riparian site and a Forested riparian site (Figure 1). At each study site, the vegetation followed a hydromorphic gradient from the hill slope to the relict channel, ranging from mesophilous to hygrophilous groups.

The Meadow was mainly characterised by *Holcus lanatus*, *Dactylis glomerata, Agrostis stolonifera*, *Juncus effuses, Glyceria fluitans,* and *Alopecurus geniculatus.* The Shrub site was composed of *Rubus fructicosus* and *Salix sp.*, but no mature trees; the herbaceous

species were principally *Urtica dioica, Holcus lanatus, Polygonum amphibium, Phalaris arundinacea,* and *Calystegia sepium*. The Forested site was mainly characterised by mature trees such as *Salix sp*. and *Quercus sp.,* the herbaceous stratum was represented by *Hedera helix* and *Urtica dioica.*

The upland part of the Meadow transect was a perennial grassland mown for hay and grazed by suckling cows and calves only few weeks per year. Fertilization rates on this field were low depending on the topography. The upland part of both the Shrub and the Forested transects was a crop field (maize/wheat) with intensive agricultural practices.

The soil type of the riparian study zones belongs to the reductisol series and consisted of an organic upper horizon, a clay silt intermediary horizon with ferric oxidation spots and a fine clay deeper inorganic horizon resulting from the schist substratum alteration.

The geological substratum of the catchment was granite in the upstream part (Villecartier Forest) and of micaschists (Brioverien Schists) in the downstream part where the study site is located. The aquifer permeability was low and the stream hydrological regime was characterized by permanent flow towards the river in dry period and rapid and significant flood events during high water period.

Equipment in the study areas:

A grid of small piezometers was installed; each was inserted to a shallow depth ranging between 1.5 and 2 m in each of the three sites (Figure 1). A piezometer consists of an open hole drilled into the saturated zone. The hole was lined using a plastic pipe of 2.5 cm internal diameter, with perforations along the bottom 50 cm; the sides were covered with glass fibre to keep the soil out of the tube in which water table elevation measurements and groundwater sampling were made. Each grid comprised basically 3 transects of 4 piezometers each. The transects were laterally spaced at about 10 m from one another, and piezometers along each transect were spaced at approximately 3 m intervals.

Additional piezometers were inserted deeper to determine the possible existence of another groundwater layer (Figure 1, Table 1). In the Shrub site, two piezometers were placed at the top of the hill slope (PF11, PF12,), four wells within the "small wells" area (PF2, PF5, PF6, PF7), and two piezometers close to the relict channel (PF3, PF4). In the Meadow, one piezometer was inserted at the top of the hill slope (PF9) and one well immediately below the hill slope (PF8). A last piezometer was installed in the relict channel bed (F15). The Forested site, as well as the deep piezometers and the relict channel, were instrumented later than the others. In order to categorize the regional aquifer and to determine whether mixing of different groundwater sources occurs, the stream and three farm wells (DW 1, DW 2, and DW 3) were sampled in the surrounding catchment (Figure 1, Table 1). At the same time, rainfall and atmospheric temperature were continuously recorded every 15 minutes using a data logger (Campbell CR10).

Table 1: Piezometers and limnigraphs characteristics.

Localization	Wells	Depth	Drilled portion
Meadow	12 wells (P1→P12)	138 to 208 cm	50 cm
	PF8	400 cm	200 cm
	PF9 (hill slope top)	470 cm	300 cm
Shrubby site	17 wells (F1→F17)	175 to 244 cm	50 cm
	Relict Channel (F15)	183 cm	50 cm
	PF2	270 cm	200 cm
	PF3	780 cm	400 cm
	PF4	270 cm	130 cm
	PF5	340 cm	240 cm
	PF6	350 cm	250 cm
	PF7	350 cm	250 cm
	PF11 (hill slope top)	850 cm	400 cm
	PF12 (hill slope top)	840 cm	400 cm
	LF2	140 cm	50 cm
Forested site	12 wells (W1→W12)	138 to 208 cm	50 cm
Surrounding Catchment	DW 1	30-32 m	
	DW 2	11 m	
	DW 3	7-8 m	
Stream	LS		

Hydrogeology :

All piezometers and the topography of the study sites were levelled using a Global Positioning System; therefore topography and water table elevation were all referred to sea level. Water table levels measurements were made in each well using a electric probe. Hydraulic conductivities in the vicinity of each well were performed using the "slug test" method (Fetter 1994). Briefly, water was quickly taken out from the well and water table recovery was analysed as a function of time (H_t=f(t)). Measurements of one well were plotted on a semi-logarithmic graph and hydraulic conductivity was inferred from the slope of the straight line.

Hydrochemistry:

Groundwater analyses were performed every 2 weeks between Winter 1998 and Spring 2000. Water was sampled from wells using a portable peristaltic pump. The equivalent of one well volume was pumped before water sampling. The samples were filtered (Whatman GF/C). Nitrate (NO_3^--N) were analysed colorimetrically after cadmium reduction using a Technicon auto analyser (Technicon 1977). Chloride (Cl^-) concentration was determined by titrimetric method using silver nitrate electrode with a Sherwood Chloride Analyser 926 (Clarke 1950).

Dataset treatment:

Maps were made using Vertical Mapper software from MapInfo, and allowed the water table elevation at different dates to be determined. The calculation method is based on triangular interpolation. Time evolution of water table elevations was performed using vertical and lateral profiles from the agricultural uplands to the stream. Concerning water table elevation and water chemistry measurements, the 3 X 4 grids of small wells in each site were grouped to one transect of 4 wells for calculation of averages and standard errors of the mean.

RESULTS

Hydrogeology

Annual rainfall ranged between 850 and 900 mm with a regular distribution throughout the year. There were several large rainfall events such as November 1998 with an average of 28.4 mm/day, February, May and December 1999 with 28.4 mm/day, 20 mm/day and 25 mm/day respectively. The annual mean temperature was 11.6°C, July and August being the warmest months with temperatures rising to 25°C. The lowest temperatures (-2.6°C) were measured in February and December 1998.

Taking all sites together, the water table measured in the "shallow wells", i.e. the grid network of 1.4 – 2 m piezometers, fluctuated from 200 cm below the soil surface to 50 cm above the soil surface. Groundwater level in the wetland followed the same general pattern as the stream hydrological regime with high water levels in late winter and early spring and low water levels in summer and early autumn. Similar patterns were observed within all three sites, even though there existed a groundwater level gradient from the Forested wetland to the Meadow, the latest being the wettest, due to its downstream position within the valley. In each site there was also a significant groundwater level gradient along the transects. At the upland-wetland interface, i.e. P1, F1 and W1, the groundwater level had the largest amplitude of variation within the year, while further downslope in the study sites, the amplitude of water table level variation progressively diminished maintaining the water level closer to the soil surface. Considering the combination of both gradients, i.e. from upstream to downstream and from hill slope to the end of the transects, the Forested riparian wells displayed the largest amplitude of variation.

Water table elevations in other piezometers and "small wells" followed the same seasonal fluctuation. Yet, when water table levels were all referred to the sea level, several differences appeared (Figure 2A). First, the stream presented the highest water levels especially during low water period, while PF12, i.e. at the top of the Shrub hill slope, had a higher water table level than the riparian wells during high water period. In the Shrub riparian site, the deepest piezometer PF3 had often a higher water table elevation than the small wells in its vicinity. Moreover, PF3 presented a larger amplitude between low and high water period, from 90 cm below the soil surface to 110 cm above the soil surface. Even though the study site was not flooded, the water table elevation in PF3 could be 1 m above the soil surface (Figure 2B). In addition, PF3 and PF12 had a short time response to large rainfall events such as the one in December 1999. On the contrary, the relict channel showed more regulated fluctuations and, based on the sea level reference; it presented the lowest water table altitude.

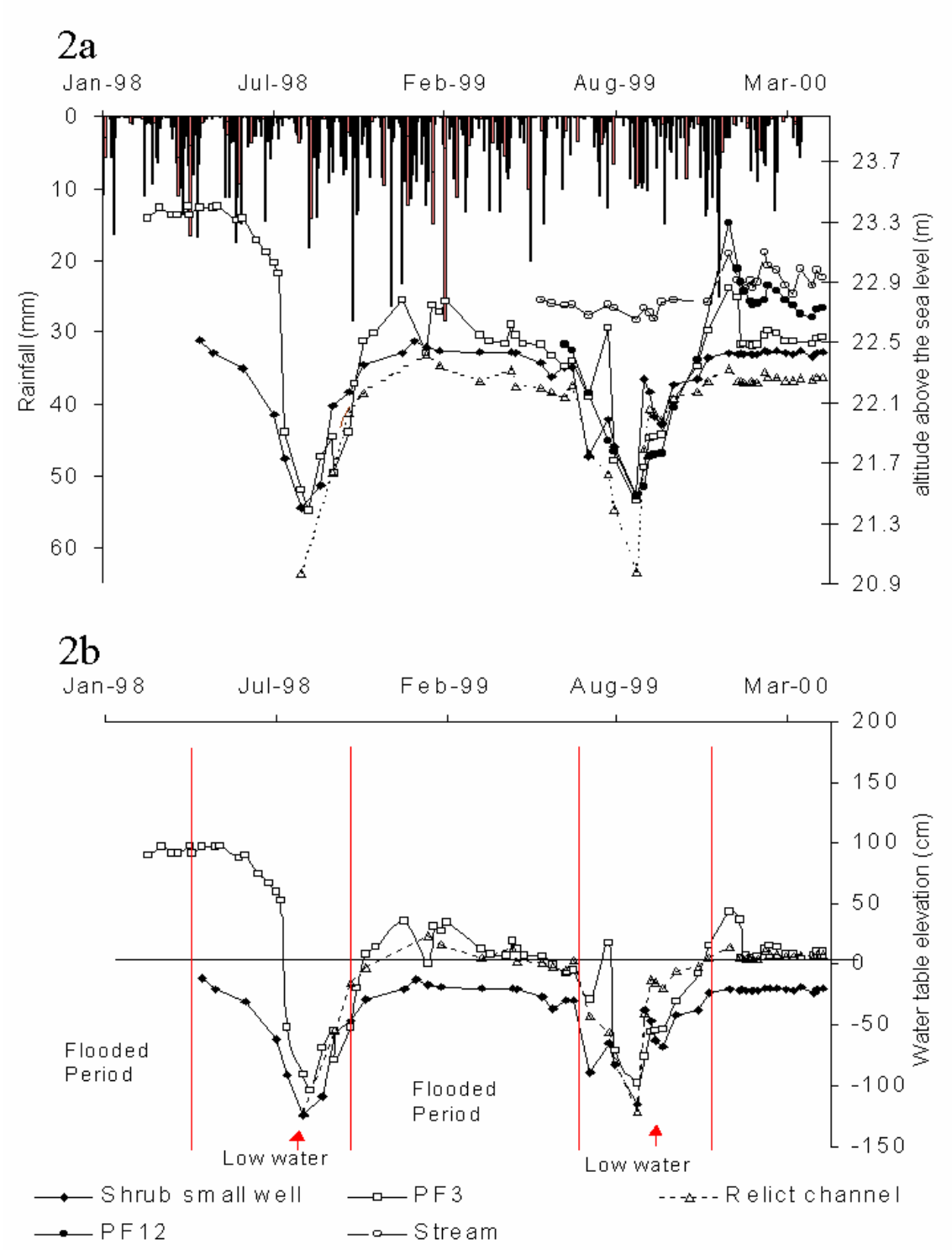


Figure 2: 2a: Rainfall and evolution of the water table elevation referred to the sea level for different measurement points, from January 1998 to March 2000. 2b: Water table level evolution referred to the ground surface for different measurement points, from January 1998 to March 2000.

Hydraulic conductivities were strongly variable within the riparian sites (Figure 3). The highest hydraulic conductivity was measured in the relict channel bed (F15, 7.2 cm h^{-1})

while lowest conductivity was found in the deepest piezometer (PF3, 0.18 cm h^{-1}), the intermediary values were randomly distributed within the other wells, with no significant difference between hill slope and riparian zones, whatever the site was considered. Overall, hydraulic conductivities in the floodplain aquifer were low.

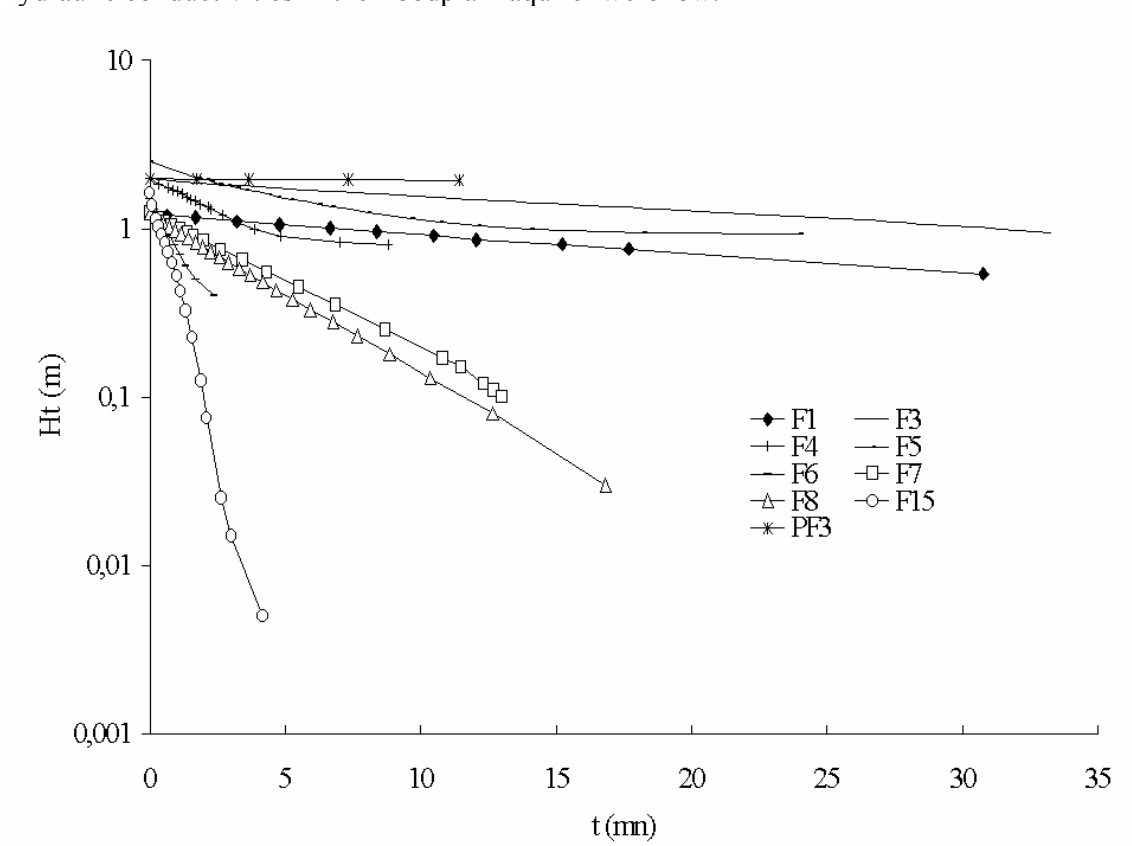


Figure 3: Water table recovery as a function of time for different measurement plots

The water table elevation survey across the whole riparian area gave a first insight about its hydrological organization (Figures 4). Despite the existence of a flow gradient from upstream to downstream, as illustrated by the topographical map of the water table at the entire riparian zone scale (Figure 4A), there was a high hydraulic gradient from the slope during high water period, sustaining high subsurface flow from upgradient fields to the riparian zones. The topographical maps also confirmed that the relict channel was the natural stream bed, since it always represented the lowest altitude (Figures 2 & 4) and the highest hydraulic conductivity (Figure 3). During flooding events, the relict channel collected waters coming from both upland and stream overflow, and finally flowed into the stream at the eastern output of the entire wetland area. This was also the case in summer when the relict channel flow was underground.

During low flow periods the water table was higher for the two last small wells of the transects in each study site. This groundwater dome extended laterally from the Forested site to the Meadow (Figure 4B). At the beginning of the recharge period, this piezometric "anomaly" remained and even increased (Figure 4C), but once the water table reached its lowest level the slope of the water table followed again the soil topography. After the upland soils have been recharged, hill slope discharge became much more significant and the hydraulic gradient from the fields to the relict channel was re-established.

(A) 18 January 1999 - High water Period

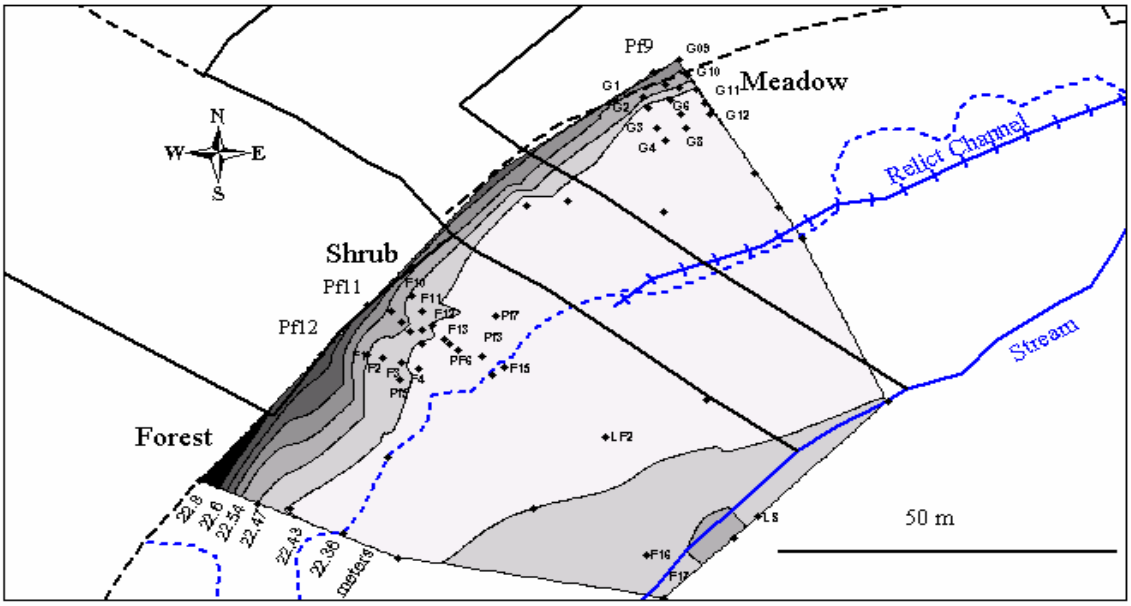


Figure 4 (A): Topographical map of the water table elevation (in metres above the sea level) within the study area in high water period.

(B) 21 September 1999 - Dry Period

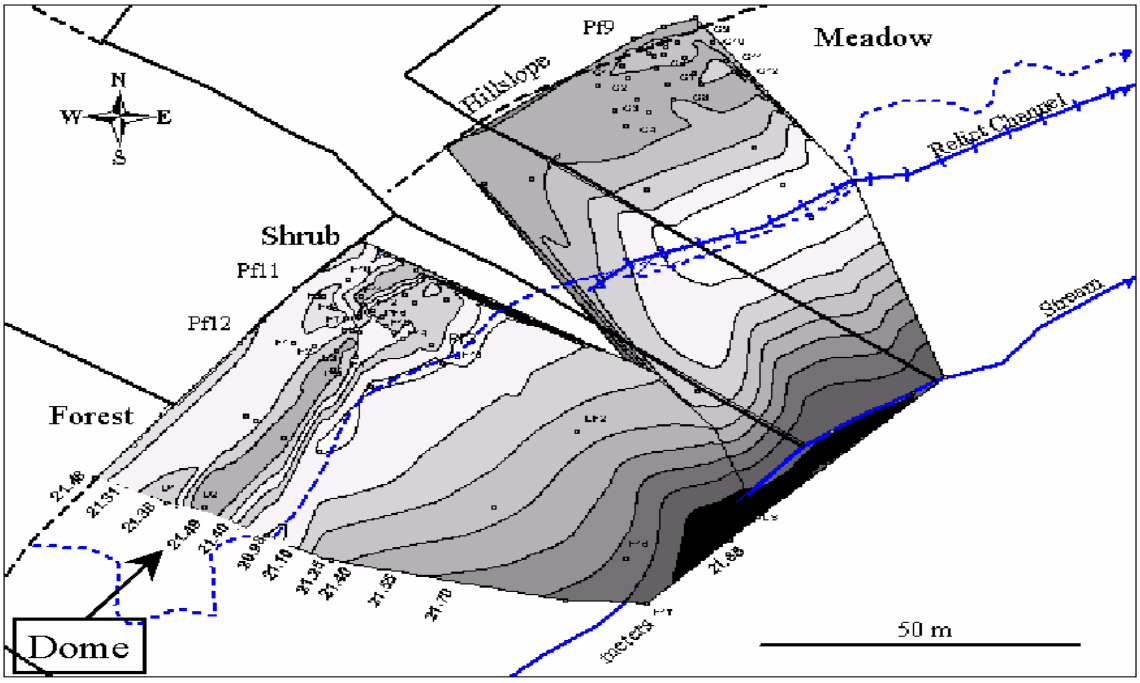


Figure 4 (B): Topographical map of the water table elevation (in metres above the sea level) within the study area during the dry period.

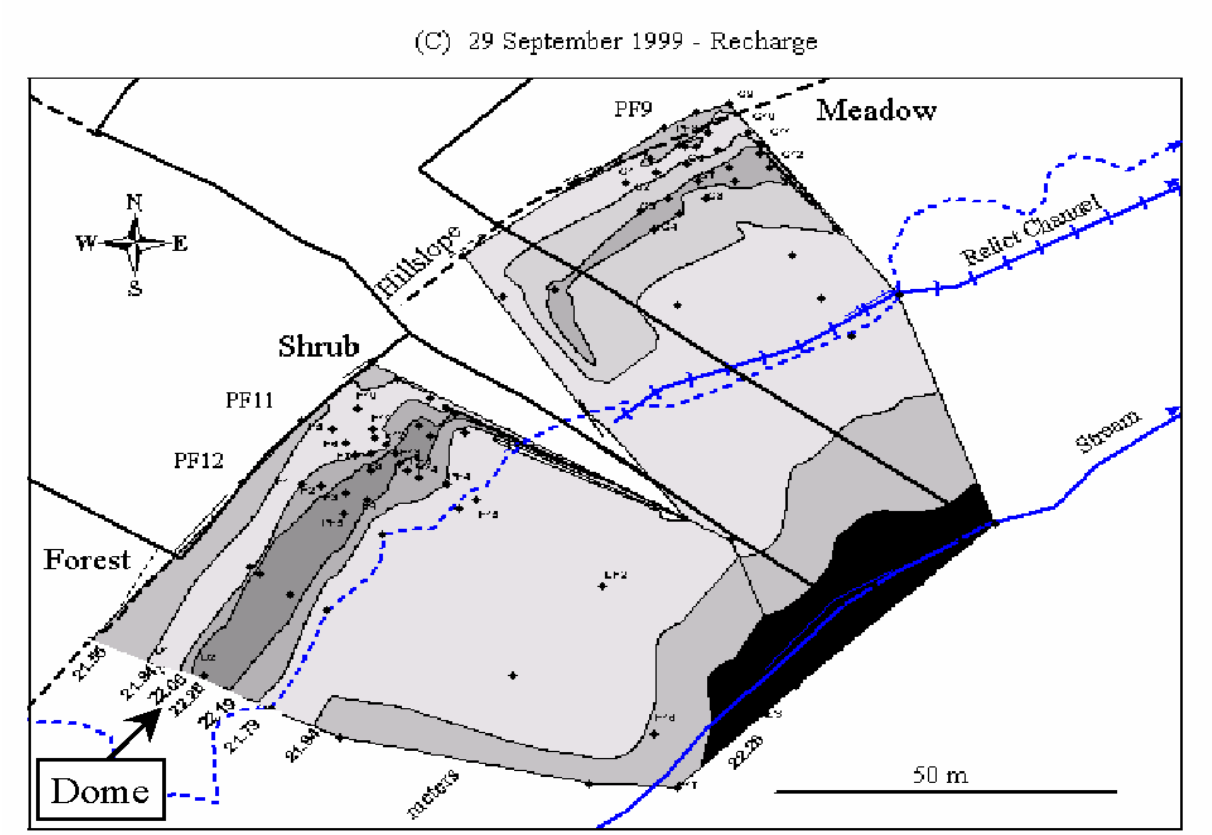


Figure 4 (C): Topographical map of the water table elevation (in metres above the sea level) within the study area at the beginning of the recharge.

Groundwater chemistry

Mean groundwater nitrate concentrations always decreased along the riparian transects whatever the concentration in the upslope area (Figure 5). Groundwater N-NO_3^- concentrations were generally higher during winter and lower in autumn. Yet, there were some significant differences between transects both in term of concentrations and decreasing rates.

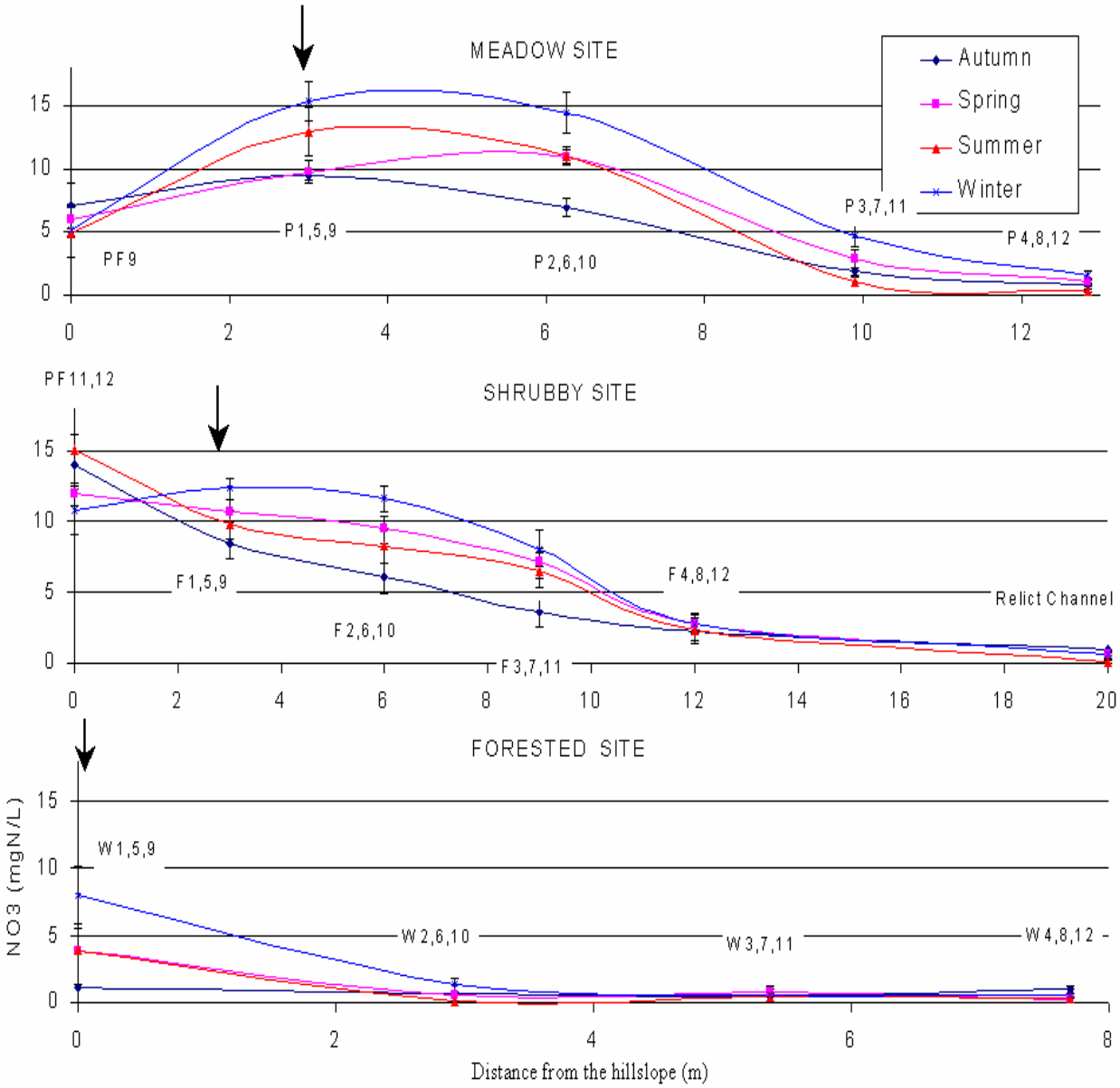


Figure 5: Seasonal averages of groundwater nitrate concentrations and standard errors of the mean along the three riparian transects. Black arrows indicate the first well located just after the hill slope.

In the Forested riparian site, groundwater concentrations sharply decreased along the transects between the two first sets of wells. At the upland-riparian Forest interface N-NO_3^- concentrations ranged from 1.1 mg N L^{-1} in autumn to 8.0 mg N L^{-1} in winter (Figure 5); they were reduced from 83 to 97% after 2.9 m further in the zone. Finally, except in the foot slope

piezometers (W1), nitrate concentrations varied from 0.1 mg N L^{-1} in autumn to 1.4 mg N L^{-1} in the rest of the Forested study area.

In the Shrub riparian site, groundwater nitrate concentrations in the piezometers at the top of the hill slope, i.e. PF11 & PF12, were higher than in the first wells of the transects into the Shrub riparian site (F1), except in winter (Figure 5). They ranged from 10.85 mg N L^{-1} in winter to 15.10 mg N L^{-1} in summer. The first wells (F1) of the Shrub transects had nitrate concentrations ranging from 8.53 mg N L^{-1} in autumn to 12.37 mg N L^{-1} in winter, and N-NO_3^- concentrations were reduced from 75 to 84% in the last wells of the transects (F4). Compared to the nearby small wells (F4), the groundwater sampled in the deep piezometer inserted in the Shrub area, i.e. PF3 – 7.80 m deep, had very low nitrate concentrations which ranged from 0.30 mg N L^{-1} in autumn to 0.66 mg N L^{-1} in Winter (Table 2). Likewise, in the relict channel, low nitrate concentrations ranging from 0.1 mg N L^{-1} in spring to 0.9 mg N L^{-1} in autumn was measured.

In the Meadow, the entering N-NO_3^- concentrations (P1) ranged from 9.41 mg N L^{-1} in autumn to 15.31 mg N L^{-1} in winter, while the nitrate concentrations ranged from 0.32 mg N L^{-1} in summer to 1.47 mg N L^{-1} in winter in the lower part of the transect. Average concentrations were reduced from 5.5 to 26% after 3.26 m within the riparian Meadow, from 70 to 92% after 6.9 m and from 89 to 97% after 9.8 m. However, the deep well at the top of the Meadow hill slope (PF9) presented different nitrate concentrations than expected from those found in the nearby small wells (Figure 5).

Average nitrate concentration in the stream water was 4.81 mg N L^{-1} ± 1.01, and ranged from 3.39 mg N L^{-1} to 6.62 mg N L^{-1} during the study period (Table 2). Upland deep wells DW 2 and 3 had similar groundwater nitrate concentrations than the upland-riparian interface wells, i.e. PF9, 11 and 12; they ranged from 9.71 mg N L^{-1} ± 1.26 and 12.79 mg N L^{-1} ± 2.11 respectively. In contrast, DW 1, i.e. 30-32 m deep, had a very low N-NO_3^- concentration (0.29 mg N L^{-1} ± 0.12).

Table 2: Seasonal average concentrations and standard errors of the mean of nitrate and chloride water concentrations from the different specific sampling points.

Nitrate (mg N/L)		Autumn		Winter		Spring		Summer	
Riparian site	Well Position	Average	±SE	Average	±SE	Average	±SE	Average	±SE
	Relict channel	0.90	0.19	0.57	0.22	0.62	0.15	0.13	0.10
	PF3	0.30	0.04	0.66	0.19	0.47	0.16	0.31	0.14
	Stream	3.95	0.42	4.68	0.87	5.33	0.59	5.98	0.23
	Rain	0.39	0.29						
	DW1	0.29	0.12						
	DW2	9.71	1.26						
	DW3	12.79	2.11						
Chloride (mg Cl/L)		Autumn		Winter		Spring		Summer	
Riparian site	Well Position	Average	±SE	Average	±SE	Average	±SE	Average	±SE
	Relict channel	55.7	8.1	46.0	3.6	44.6	2.1	33.0	1.7
	PF3	24.7	1.5	25.2	2.1	24.5	4.8	25.0	1.0
	Stream	36.3	3.28	34.0	1.9	35.0	2.4	34.5	1.5
	Rain	10.5	6.5						
	DW1	38.2	3.1						
	DW2	42.1	5.2						
	DW3	39.3	3.1						

Groundwater chloride concentrations (Cl^-) ranged between 30 and 50 mg Cl^- L^{-1} with no significant seasonal variations in either the Meadow or the Shrub sites (Figure 6). Along both the Meadow and the Shrub riparian transects, groundwater chloride concentrations dropped from an average from 47.8 mg Cl^- L^{-1} ± 6.6 and 46.2 mg Cl^- L^{-1} ± 6.6 at the upland-riparian interface to 42.0 mg Cl^- L^{-1} ± 7.8 and 33.5 mg Cl^- L^{-1} ± 8.1 in the last wells of the Meadow and the Shrub respectively. The decrease was particularly significant between the two last piezometers of the Shrub transects with a decrease of approximately 10 mg Cl L^{-1}, while the reduction was more gradual across the Meadow transects. Deep piezometers at the top of the Shrub hill slope, i.e. PF11,12, presented slightly lower Cl^- concentrations than the first wells of the Shrub transects (F1). In the Meadow, PF9 had chloride concentrations about 20 mg Cl L^{-1} less than the ones measured in the first wells of the transects (P1). In the Shrub site, PF3, i.e. the deepest well, had the lowest Cl^- concentration (around 25 mg L^{-1}) compared to the more superficial neighbouring wells (F4) (Table 2). Water chloride concentrations from the surrounding farm wells were not significantly different than those found in the deep wells installed in the hill slope, i.e. PF11 and 12. However, DW 1 had slightly lower chloride concentrations (Table 2).

The Forest riparian site followed a different pattern with significant seasonal variations. High groundwater chloride concentrations (133 mg Cl^- L^{-1}) were measured at the upland-riparian interface (W1) in winter and spring, while lower concentrations (about 50-60 mg Cl^- L^{-1}) were measured in summer and autumn. Furthermore, in this riparian site, chloride concentrations decreased from the upland-riparian interface to the end of the transects in winter and spring, while they remained constant in summer and autumn.

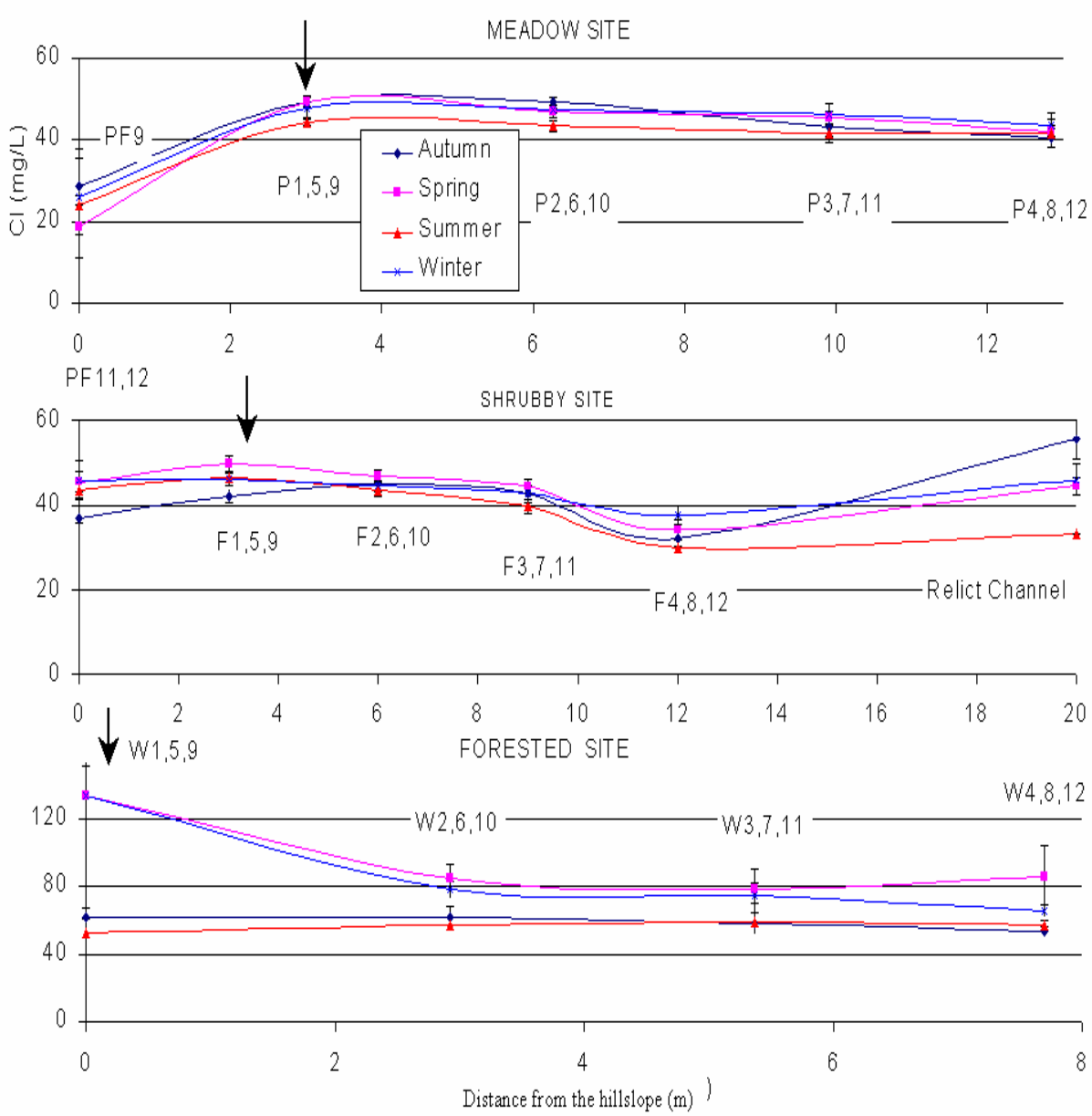


Figure 6: Seasonal averages of groundwater chloride concentrations and standard errors of the mean along the three riparian transects. Black arrows indicate the first well located just after the hill slope.

There was no significant seasonal pattern in the stream water chloride concentrations with an average of 35 mg $Cl^- L^{-1}$, while the relict channel presented some seasonal variations in chloride concentrations with high values in autumn and low ones in summer (Table 2). Finally, nitrate and chloride concentrations in rain water samples were significantly low compared to surface and ground waters chloride concentrations.

Hydrochemical signature of the reservoirs:

Considering chloride as a conservative tracer (Altman and Parizek 1995), we plotted Nitrate and Chloride concentrations of each sample from representative water sampling locations within the study area (Figure 7).

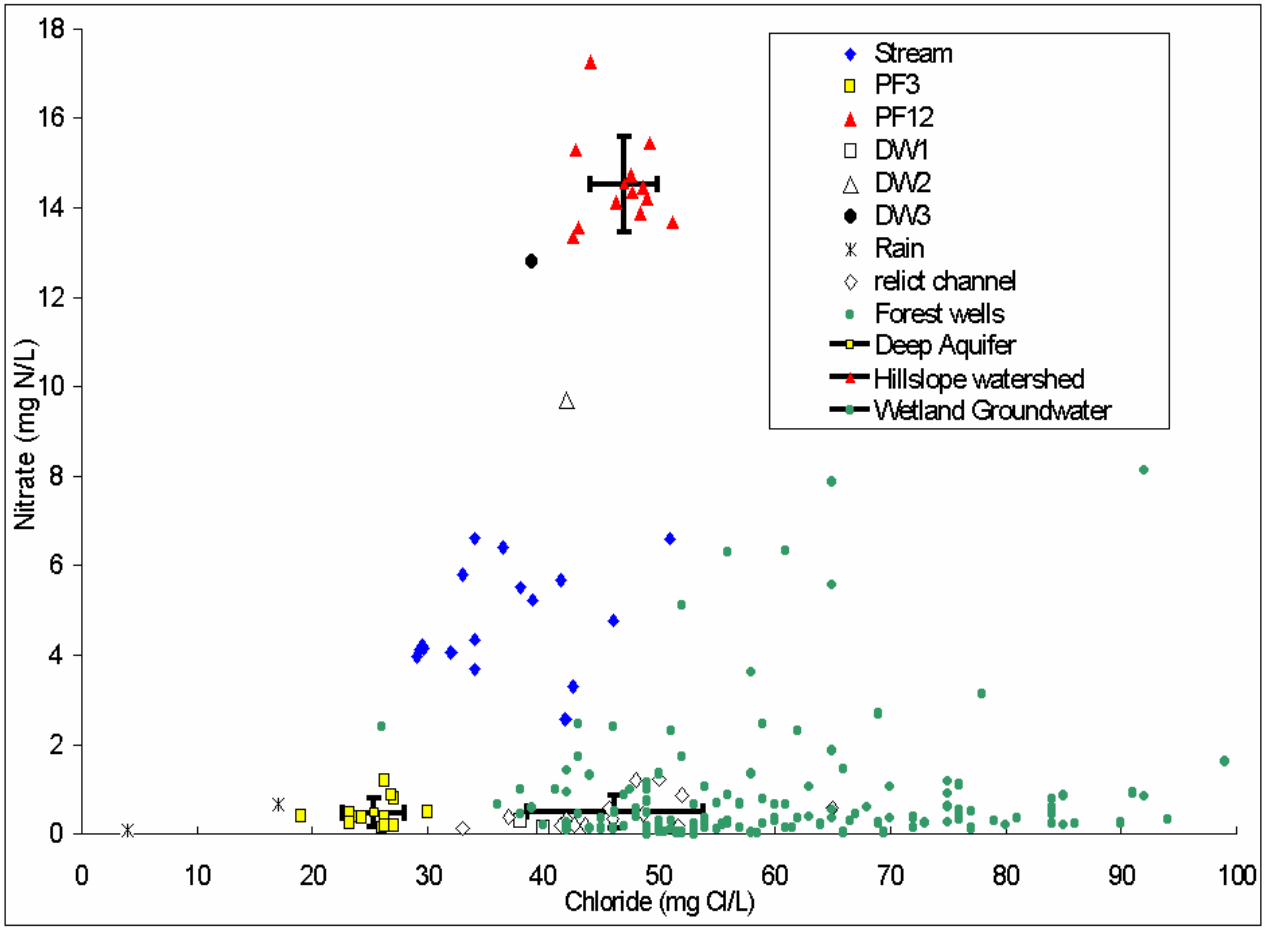


Figure 7: NO_3^- and Cl^- concentrations in water samples from different locations within the catchment.

Three groups were identified as chemical end-members which represented the three different reservoirs determined from the hydrogeological measurements. The first group (1) represented the upslope reservoir with high nitrate inputs from agriculture (i.e. PF12). The second one (2), characteristic of the upstream Forested site which presented the highest chloride concentrations and lower nitrate ones. The presence of a "deep" reservoir (3) was inferred from the artesian behaviour of the deep piezometer PF3. The existence of this deep reservoir was confirmed by the chloride concentration of the water which was significantly lower than the upslope piezometers and close to those measured in rain water and the very deep farm well (DW1). All the other piezometers were located between these three end-members.

DISCUSSION

Hydrogeology

The hydrogeological characterization of the area first requires the identification of the different reservoirs involved in the underground and surface water cycle, as well as the relationships between the different reservoirs. The simplest scheme would involve at least three reservoirs: an unconfined aquifer in the hill slope, an unconfined aquifer in the wetland and the stream. In that simple case, the expected relationships between these reservoirs would be that water of the unconfined aquifer would flow from the hill slope towards the wetland which would be drained by the stream. However, an analysis of the water table levels revealed a more complex functioning of the site which involved also a confined aquifer and a relict channel which appeared to be the lowest relief of the wetland.

In fact, the slope from upland to the riparian zones was constituted by two main geological layers; a lower layer made of weathered schist extending from the upland to the stream, and a second upper layer made of alluvial deposits and corresponding to the wetland zone itself. Therefore the inflow from adjacent hill slope running under the riparian strip could be considered as a semi-confined water layer, since it was also able to supply the wetland during high water period.

The relict channel acted as the main drainage system of the wetland (Figures 4A, 4B & 4C). However, during low water periods the hydraulic gradient distribution showed that the groundwater surface did not follow the soil topography from the hill slope to the relict channel (Figures 4B & 4C). Indeed, during low water periods and at the beginning of the recharge (two months a year), the hill slope did not seem to be the main source of groundwater to the floodplain. In actual fact, the groundwater “dome” was probably a buried ancient channel filled with permeable sediments and likely to recharge faster than the rest of the riparian zone. The dome had its source in the vicinity of the Forested riparian site, and flowed parallel to the stream with a lower speed. Therefore this groundwater dome supplied the riparian zones in summer (Figures 4B & 4C). This could explain the hydraulic gradient inversion observed in the two last wells of the transects during low water and the recharge periods.

An alternative explanation of this "anomaly" may be the contribution of a deep water layer which could supply subsurface floodplain water by up-welling. PF3, a 7.80 m deep well which presented the lowest hydraulic conductivity (Figure 3), had been inserted through a deep impermeable soil horizon which separated two different aquifers, i.e. a unconfined shallow aquifer and a confined deep aquifer. Indeed, PF3 had a peculiar hydrological behaviour, since its groundwater table elevation was often higher than in the other nearby riparian wells (Figure 2a). This change of aquifer properties down the soil profile was certainly due to a variation in the nature of the alluvial deposits with depth. Other deep piezometers (PF2 to PF8) also presented higher but not significant water levels than those measured in the shallower wells in their vicinity (data not reported here). It confirmed a gradual change with depth of the hydraulic properties of the aquifer which evolved from a well drained unconfined aquifer to a confined aquifer. Since the alluvial deposits were found all along the valley and at the foot of the hill slope, the lateral extension of this confined aquifer corresponded to the whole wetland.

Moreover, the water table level of the well PF3 was about one metre above the ground surface in spring 1998 while the water table of the unconfined aquifer (small riparian wells) was below the ground surface (Figure 2b). It implied that the confined aquifer was supplied with water from the surrounding relief. Given these aquifers characteristics it may be possible that, at the "anomaly" location in the riparian area and during the dry period, the deep

groundwater from the confined aquifer represented the main contribution to the shallow one by up-welling.

Finally, hydrological survey confirmed that different water sources were contributing to the floodplain water regime, and their respective contributions were dependant on the water regime. Short-time reactions of the water table levels to large rain events in PF12 and PF3 revealed their ability to supply the groundwater floodplain level on an annual basis (Figures 2a & 2b). During high water period, the upland flow was predominant and sustained the floodplain water table elevation. During low water period and at the beginning of the recharge, i.e. for about two months each year, the floodplain water table elevation was sustained by water coming from either the lateral groundwater dome and/or deep groundwater contributions. The deep confined aquifer was supplied by the surrounding relief.

Furthermore, results of the water table survey clearly demonstrated that the relict channel was still controlling the overall hydrology of the whole wetland, since it corresponded to the natural stream bed. This illustrates the long-term impact of the floodplain geomorphology even long after human intervention such as the straightening of the stream.

Hydrochemical signature of the reservoirs:

In general, the upland shallow reservoir (PF12) was associated with the upper parts of the fractured schist formations. Within these layers, the water fluxes were roughly parallel to the soil surface and faster than the fluxes in the deeper part of the unaltered rock.

The high chloride concentrations measured in the upstream Forested site were interpreted as the result of intense transpiration by the trees which seasonally fluctuated according the uptake rates and climatic conditions (Figure 6). These high chloride concentrations were also found for some samples in the relict channel which has its source in the forested site (Table 2). During the low water period, the chemical signature of the relict channel was closer to the other piezometers of the Shrub site whilst during the high-water period, it was much closer to the Forest group composition (Figure 7). Thus, this end-member remained the main supplying source for the relict channel. It confirmed the contribution of this structure in the drainage of the wetland, as observed from water table levels (Figures 4). As a result, the relict channel could be seen as an evidence of the amount of water which is being processed by the riparian area.

Concerning the deep confined aquifer (PF3), the low chloride concentrations indicated that little transpiration occurred during infiltration (Table 2, Figure 7). We postulated that this hydrogeological compartment corresponded to rather direct and vertical infiltration followed by a deep cell. Such process involved a recharge area relatively far from the site. This process and the similarity between piezometer PF3 and the very deep farm wells (DW1) indicated that the deep component identified in the riparian study sites corresponded to a local aquifer, i.e. related to the schist geological formation. The extent of this deep aquifer corresponded to the floodplain surface. The vertical extension of such an aquifer was not known but might be more than 100 m deep.

Fluxes in the riparian transects:

In agreement with the hydrogeological survey, the shallow piezometers from the wetland had a chemical signature which differed from both the deep piezometer (PF3) and hill slope piezometers (PF12) (Figures 5 & 6, Table 2). Groundwater nitrate concentrations always decreased along the riparian transects whatever the season or the site (Figure 5).

Given the outputs from the hydrogeological survey, different hypotheses could be made, based on the identified end-members.

At the entire riparian zone scale, the nitrate decline along the transects could be seen either as the result of a mixing process between the Forested site groundwater (only site with higher chloride concentrations than the hill slope) and a deep component such as PF3 (low chloride-low nitrate), or a hill slope component which had undergone nitrate retention processes along the riparian transect, mainly denitrification and/or plant uptake. When the piezometric dome was apparent, a dilution between the hill slope water, flowing along the riparian water flowpaths, and the deep confined aquifer was suspected at least in the last two wells of the transects. However, this dilution process was limited in time since the groundwater dome was present only for about two months each year.

Within each riparian site, the analysis of both chloride and nitrate behaviour along the transects gave insights into the processes influencing the groundwater nitrate concentrations. In the Meadow site, the dilution occurrence must have been limited since the Cl^- concentrations were rather stable along the transect while the $N\text{-}NO_3^-$ concentrations always decreased, whatever the season (Figures 5 & 6). The deep piezometer on the hill slope (PF9) presented lower chloride and nitrate concentrations than the first wells of the Meadow transect (P1,5,9), therefore it could be hypothesised that PF9 was inserted in another ground water layer, i.e. the deep confined aquifer identified in PF3. Finally, the nitrate decline within the meadow riparian site resulted mainly from some retention processes.

In the Shrub site, the dilution was obvious between the third and the fourth set of wells since the nitrate decline between these two wells was linked to an important decrease in the Cl^- concentrations (Figures 5 & 6). Given their similar chloride concentrations in summer, the relict channel and the fourth well were contributing to this dilution, while in the rest of the year the relict channel had higher Cl^- concentrations and dilution may only have occurred from the relict channel to the fourth well. In the upper part of the Shrub transects, dilution did not influence the nitrate decrease which therefore resulted from biological retention processes.

Along the Forested transects, the three last sets of wells were subject to dilution especially in Winter and Spring when the groundwater Cl^- concentrations decreased from the first well to the second one (Figures 5 & 6). However, it is difficult to conclude that dilution was restricted to the riparian wells since there was no deep piezometer installed on the forested hill slope which could give information about the water chemistry before it entered the Forested zone. Furthermore, the high evapotranspiration rates consequential to the tree canopy may have hindered the other biological processes. Nitrate decline was likely to be controlled by dilution, but biological retention processes probably occurred in summer when chloride remained stable.

Finally, the hill slope reservoir was confirmed as the source of water flowing along the upper part of the riparian transects, while the lower part was subject to dilution with deep confined aquifer or relict channel water coming from the forested site. In any case, the groundwater nitrate decline measured along the riparian transects was likely to be caused by biological processes. As a result, the alluvial-sediment filling the floodplain contained a surficial reservoir which had its own dynamics, as shown by the relict channel which was the main structure of this surficial reservoir and presented a chemical composition characterized by low nitrate concentrations and a large range of chloride concentrations; sometimes clearly higher than the hill slope reservoir concentrations (Figure 7).

Functioning scheme:

From the combination of the hydrogeological and hydrochemical approach, a complete scheme of the hydraulic functioning of the wetland can be produced (Figure 8). It highlights the role of the relict channel as a drain for the wetland and the fact that water fluxes in the horizon 0.5 - 2.5 m were mainly organized along the wetland.

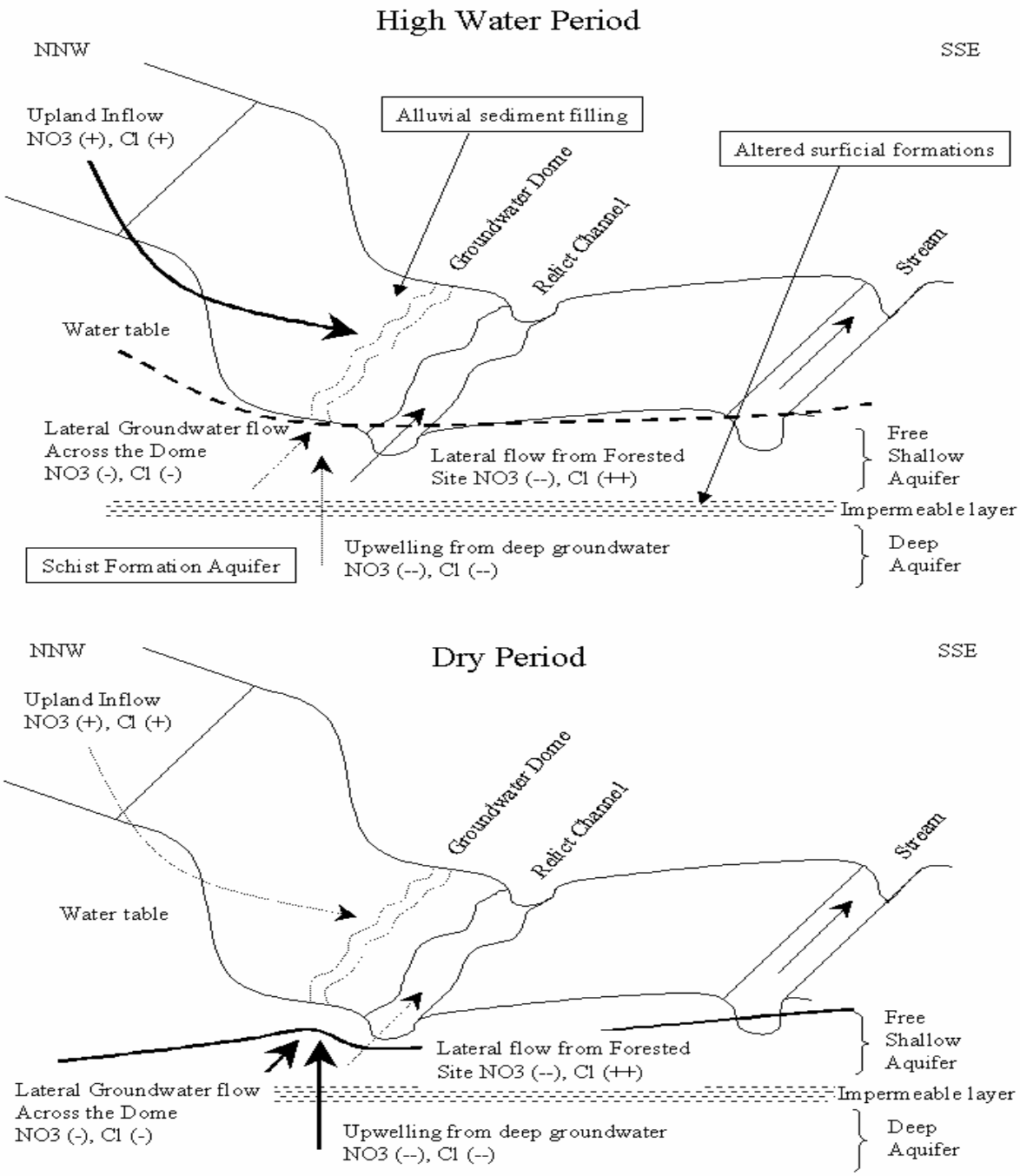


Figure 8: Schemes of the hydrological functioning of the riparian zone in high and low water period. Relative importance of each water source is illustrated by the size of the arrows.

During the low-water period, the fluxes from the hill slope seemed to be curved in order to run along the wetland and outflow in the river, downstream the wetland. Due to the complex mixing processes occurring in the wetland, characterization of the processes affecting the nitrate content of the hill slope reservoir are not clear. Two observations indicated that two different processes were occurring.

As mentioned above, the Forested site chloride concentrations were interpreted as the result of evapotranspiration process. In that case, nitrate uptake by the tree roots was the most likely process to obtain the low-nitrate concentration observed. On the other hand, piezometers from the foot of the hill were characterized by nitrate concentrations evolving during the year towards lower concentrations during the summer, with a rather constant chloride concentration (Figure 5 & 6). Such a pattern was interpreted as the result of denitrification processes.

Influence of the reservoirs at the basin scale:

Given the identification of the three main reservoirs participating of the floodplain hydrologic regime, we attempted to quantify the variations of their relative contribution to the river fluxes. Hence, nitrate and chloride concentrations of each reservoir have been computed (Table 3).

Table 3: End-members Nitrate and Chloride concentrations averages and standard deviation of the means for computation of the watersheds influence at the basin scale. These averages are applied to monthly Stream Nitrate and Chloride concentrations to calculate the percentage of their individual contribution.

	Computed End-Members		
	Hill slope Watershed (PF12)	Deep Aquifer (PF3)	Wetland Watershed (Relict channel)
Cl (mg L^{-1})	47	25.35	46.2
	±2.92	±2.67	±7.64
N-NO3 mg L^{-1}	14.53	0.48	0.50
	±1.07	±0.31	±0.37

The end-members corresponded to the average of the composition of PF12 for the hill slope reservoir, PF3 for the deep reservoir, and the relict channel which had been chosen as representative of the wetland reservoir. The uncertainty associated with the computed end-members only corresponded to the values measured on site. At the scale of the creek, the representativity of these end-members could be questioned, especially for the hill slope and the wetland reservoirs. Yet, the variations computed reflected the overall trends of their respective contribution.

The identification of these 3 different reservoirs allowed us to calculate their respective contribution to the surface fluxes on a monthly basis, based upon the stream water quality data (Figure 9).

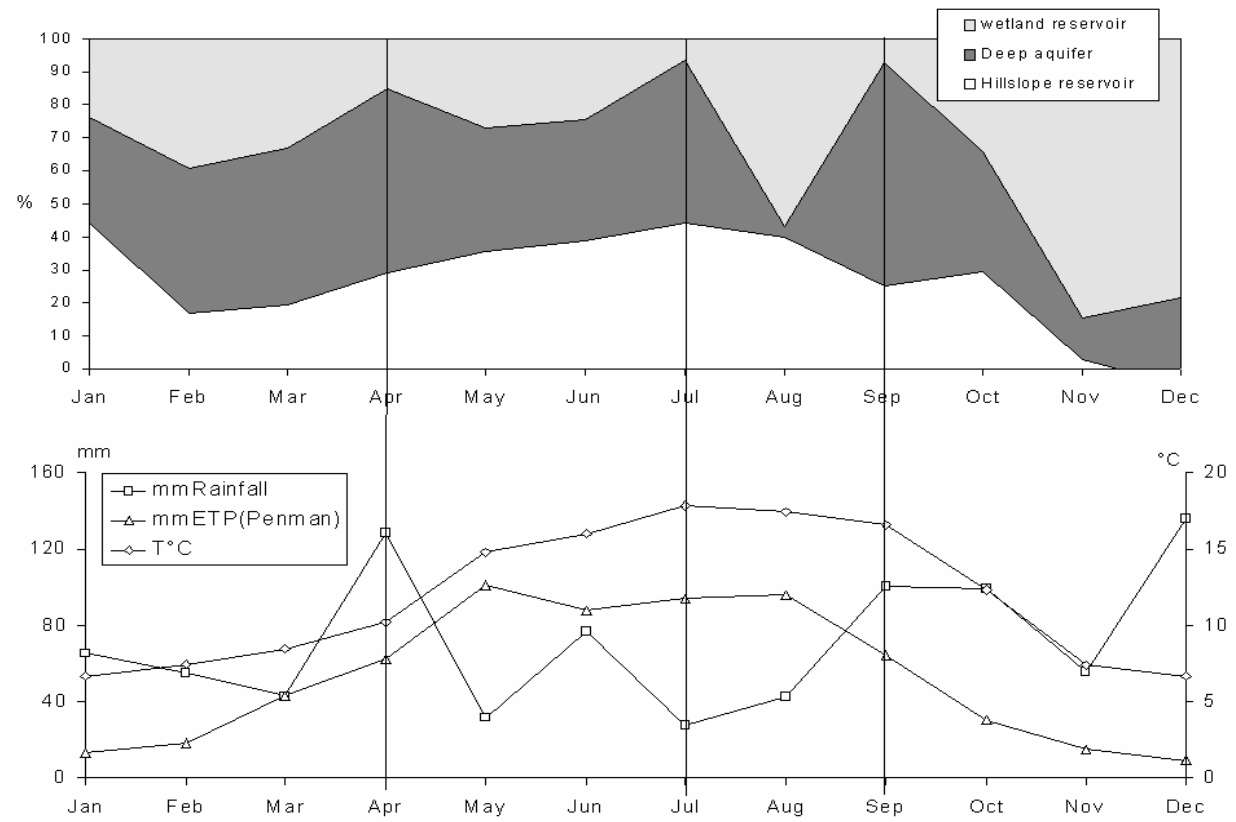


Figure 9: Respective contribution in % of the three reservoirs to the surface water represented by the stream on a monthly basis. Rainfall, Evapotranspiration and Temperature are reported on the same time scale.

The contribution of the deep aquifer was relatively stable (average 37 %of the total flow) despite some seasonal variations which could be related to high difference between rainfall and ETP. In actual fact, the deep aquifer contribution indicated that more than a third of the stream water had not been processed within the wetland and had bypassed it.

The contribution of the hill slope reservoir that did not pass through the wetland varied seasonally, with its largest percentage during the spring rainy season. Its contribution ranged from 0 to 44 %. This could be related to the fact that the wetland was generally flooded in spring and that most of the water coming from upland just overflowed and reached the relict channel without any exchange, either with soil or vegetation.

The wetland reservoir was also variable with a large contribution during the groundwater recharge period in autumn. Its contribution ranged from 6 to 85 %. This last point was important since the recharge of the wetland corresponded to the highest risk of nitrate leaching caused by excessive rain in autumn. Hence, the retention capacity of the wetland is of great interest regarding the potential nitrate fluxes which may flow through it during that period.

Estimation of nitrate retention:

The water fluxes and the rates at which nitrate concentrations decreased when the water flowed through the wetland could be estimated, based on water table levels measurements and nitrate concentrations from the site. Two different computations were carried out (Tables 4 & 5). For both computations, a mean permeability value of $K = 10^{-5.5}$ m s^{-1} has been used.

(1) Site by site: Nitrate reduction rates were computed for a cross section located between the hill slope and the foot of the hill, i.e. when the water entered the wetland. By taking into account only the foot of the hill slope, mixing processes with the longitudinal or vertical fluxes observed in the relict channel or the piezometric dome could be neglected. During the low-water period, the concentrations of the piezometers were representative of the water flowing into the wetland. During the high-water period when the wetland was flooded, the concentrations only represented a part of the water flux. The other part of the water which flowed over the soil had virtually no chance to be involved in any retention process within the riparian transects. Thus, the nitrate reduction rates might have been overestimated during these flooded periods.

The first computation was done either for a zone which includes the hill and the foot of the hill (zone 1) in the Shrub or for a zone which borders the foot of the hill (zone 2) for each site. For this first computation, the nitrate concentrations has been corrected for the transpiration processes deduced from the evolution of the chloride concentrations. The zone 1 computation in the Shrub showed a low nitrate reduction. It underlined the fact that the upland flow was not undertaken by any retention process between the top and the foot of the hill slope.

Zone 2 computations allowed us to compare the three different sites. The water fluxes were relatively similar for all of them, ranging from 2-8 L h^{-1} during summer to 10-28 L h^{-1} during winter (Table 4). Little effect of the seasons could be seen in the nitrate reduction estimation except in the Meadow. The difference in the water fluxes measured during winter, between zone 1 and zone 2 in the Shrub was due to the fact that a part of the upland flux flowed over the soil because the riparian zone was flooded. Furthermore, during the flooded periods some lateral fluxes flowing from upstream to downstream may also have reduced the upland fluxes

Table 4: Results of Computation n°1. Zone 1 (Shrub) is between PF12 and F1,5,9. Zone 2 is between the first and the second sets of piezometers.

Computation 1 Site by site	Season	Water Flux (L h^{-1})	Nitrate reduction (%)
Zone 1 (Shrub)	Summer	5 ± 3	2
	Winter	23 ± 5	2
Zone 2 - Shrub	Summer	3 ± 3	42
	Winter	10 ± 3	56
Meadow	Summer	8 ± 10	14
	Winter	28 ± 7	90
Forest	Summer	5 ± 3	82
	Winter	23 ± 5	85

Given these estimations of nitrogen retention within each riparian study site, it seems likely that biological processes were the main nitrate retention pathways in the upper part of the transects, although dilution may occur in the lower part.

(2) At the entire riparian zone scale: Whatever the process (mixing with deep aquifer water, denitrification along the hydraulic gradient or nitrate uptake by the vegetation), a complete reduction of the nitrate concentration of the waters flowing through the wetland had been observed. Even during the flooded periods, the water coming from the ditch which extended the relict channel and drained the whole wetland, also had low nitrate concentrations (Table 2). In this second computation concerning the whole riparian strip, PF12 has been used as the source term for the nitrate concentration of the whole hill slope reservoir along the wetland. A mean nitrate concentration from the relict channel of 0.5 mg N L^{-1} has been used as the outflow value. The mixing of deep aquifer water which was also taken into account in the nitrate decrease was not a real nitrate reduction process but only a dilution process. Thus the computation might have been overestimated. However, if dilution is important to understand the hydrochemical functioning of the wetland, we did not think that it represented an important component at the wetland scale. Another approximation is that during winter a part of the upland flux flowed over the soil when the riparian zone is flooded. Thus, the flux measured at the output of the cross section is reduced compared to the fluxes which entered the cross section. The estimation of the overall nitrate reduction effect of the wetland is presented in Table 5. The nitrogen mass entering the wetland ranged from 1 g N hr^{-1} in summer to 8 g N hr^{-1} in winter, while the nitrogen mass at the output ranged from 0.09 in winter to 0.26 g N hr^{-1} in summer. Thus, winter seemed to be the most efficient season in term of nitrate retention, despite an increase in the upland flow during this period.

Table 5: Results of Computation n°2.

Computation 2 The whole Riparian Strip (Figure 9)	Nitrogen Input (g N h^{-1})	Nitrogen Output (g N h^{-1})
Summer	1.1 ± 0.1	0.26 ± 0.06
Winter	8.1 ± 0.5	0.094 ± 0.025

CONCLUSION

A hydrogeological characterization of the study area allowed identification of three main reservoirs which contributed to the overall water regime of the valley. The upland flow supplied the wetland area, mainly in high water period, with high nitrate and average chloride groundwater concentrations. A deep confined aquifer has also been identified. This was characterized by low nitrate and low chloride concentrations and could supply the floodplain by up-welling. The Forested site had high chloride with low nitrate concentrations and represented the wetland system where biological processes were suspected of removing groundwater nitrate. The stream could also supply the floodplain when it over flowed during high water period. The relict channel continued to control the overall hydrology of the wetland since it corresponds to the natural stream bed and thus drained the wetland. This illustrates the long-term impact of the floodplain geomorphology even long after human intervention such as the straightening of the stream. The nitrate and chloride patterns along the riparian transects highlighted retention processes in their upper parts close to the hill slope, but dilution may have occurred in the lower parts, especially during low-water periods and at the beginning of the recharge periods. The stream flow was modelled as the mixing of the three reservoirs contributions. An estimation of these contributions showed that the deep aquifer contribution to the stream flow was relatively constant, while the wetland reservoir and the upland flow varied according to rainfall and the wetland water table. Nitrate fluxes entering the wetland and the percentage retention in each study site and in the whole riparian strip were calculated. The fluxes entering each site were similar and ranged from 2-8 L h^{-1} during summer to 23-28 L h^{-1} during winter. High nitrogen retention rates were found in the three study site and allowed us to confirm that biological processes were operating to eliminate groundwater nitrate. At the entire wetland scale, the winter season appeared to be the most effective in terms of nitrate retention despite the high nitrate fluxes coming from the upland and entering the riparian zone during this time.

ACKNOWLEDGEMENT

This study is part of a European project called NICOLAS: Nitrogen Control by Landscape Structures in Agricultural Environments, which was supported by a grant from the Environment & Climate Directorate of the European Union, n° ENV4-CT97-0395.

SYNTHESE

L'un des tous premiers facteurs de l'étude de la capacité de rétention des zones humides est l'hydrologie, ou encore la complexité des flux hydriques qui convergent vers le cours d'eau *via* la zone humide. La dénitrification et l'assimilation végétale ou microbienne ont classiquement lieu dans les premiers centimètres de sol. Ainsi, pour que les NO_3^- provenant des terres agricoles soient pris en charge dans la zone humide, la nappe qui les transporte doit être le plus proche possible des horizons superficiels et la vitesse des écoulements doit être limitée. Or, dans le contexte d'une zone humide naturelle, le niveau de la nappe et le cheminement des écoulements sont principalement contrôlés par les conditions hydrogéologiques souvent complexes dans ces milieux d'interface. En effet, différentes sources peuvent alimenter une zone humide: la nappe de versant, le cours d'eau, les nappes profondes, les sources ponctuelles et la pluie. Des dilutions peuvent alors avoir lieu entre des eaux chargées en nitrate et d'autres plus pauvres, la diminution des teneurs en nitrate observée ne sera donc pas dans ce cas le résultat d'une rétention biologique. Enfin, bien que l'hydrologie soit aussi un facteur prédominant qui contrôle les processus de recyclage ainsi que leur capacité à réguler les flux d'azote, peu d'études à ce jour ont entrepris de déterminer les différents flux hydrologiques existant dans une zone humide. L'identification, dans l'espace et le temps, de tels écoulements est pourtant une première étape nécessaire pour comprendre comment différentes sources hydrologiques interagissent et influencent le cycle de l'azote dans une zone humide, par les apports de nutriments ou les phénomènes de dilution qu'elles entraînent. Au cours de ce premier chapitre, nous avons donc tenté d'identifier et de quantifier les différentes sources et les principaux cheminements de l'eau caractérisant nos sites d'études, tout en considérant leurs variations saisonnières.

En marge de cette démarche d'autres intérêts plus particuliers peuvent être énoncés. En effet, les trois sites d'études sélectionnés sont proches les uns des autres et bordent le même ruisseau, la juxtaposition de leurs études hydrologiques individuelles revient donc à étudier une longueur significative de zone humide. De plus, elles bordent un cours d'eau d'ordre 4 typique des bassins versants sur schiste que l'on trouve en Bretagne. Une telle étude hydrologique représente donc un cas de figure pouvant servir de base à la compréhension de l'hydrologie d'autres zones humides bretonnes.

Dans un premier temps, l'analyse de l'hydrogéologie, au travers du suivi des variations de hauteurs d'eau dans les différents points de mesures installés sur l'ensemble de la zone humide, a permis de mettre en évidence les différents compartiments qui influencent l'hydrologie générale de la plaine inondable. Ainsi, une des premières caractéristiques de la zone riveraine est illustrée par l'importance du bras mort qui se révèle être encore le principal talweg de la zone humide, malgré le détournement du cours d'eau. En effet, le bars mort présente la plus basse altitude et draine les eaux provenant du versant et passant par la zone humide, de même que l'eau du cours d'eau en période de crue. Ceci illustre l'impact de la géomorphologie de la plaine inondable qui se maintient dans le temps même longtemps après d'importants aménagements tels que le détournement du cours d'eau.

Une autre caractéristique est mise en évidence par le piézomètre profond installé au cœur de la zone riveraine (PF3, 7.80 m). En effet, le comportement hydrologique particulier de ce puit révèle la présence d'une nappe profonde et captive située au-delà de 4 m de profondeur. La hauteur de la nappe dans PF3 est souvent supérieure à celle des autres piézomètres alentours (Figure 2), et réagit rapidement aux épisodes pluvieux, ce qui laisse supposer que la fourniture en eau de cette nappe est assurée par l'ensemble du bassin versant. Au sein de la zone riveraine on trouve donc une nappe superficielle localisée entre 0 et 4 m

de profondeur et une nappe captive située en-dessous de 4 m. Ce changement de propriétés de l'aquifère révèle la variabilité de la nature des dépôts alluviaux avec la profondeur.

Le suivi des hauteurs d'eau le long des transects de petits piézomètres, installés entre le talus de ceinture et le bras mort, montre que de façon générale l'eau provenant du versant, illustrée par les puits profonds installés en haut de talus (PF9, 11 & 12), s'écoule dans la zone humide dans les 4 premiers mètres de sol pour rejoindre le bras mort (Figure 4A). Les conductivités hydrauliques mesurées sont faibles et traduisent la faible perméabilité du substrat (Figure 3). Cependant, au plus bas de la période de basses eaux et au début de la recharge, c'est à dire 2 mois par an, on assiste à une rupture de la topographie de la nappe au niveau des piézomètres les plus proches du bras mort. En effet, les gradients hydrologiques sont inversés et tout se passe comme si une source émergeait dans ces piézomètres et alimentait la zone riveraine. Les hauteurs d'eau mesurées y sont en effet supérieures à celles que l'on peut trouver dans les autres piézomètres plus proches du talus ou même dans le bras mort (Figures 4B & 4C). La présence de ce dôme piézométrique soulève plusieurs hypothèses quant à son origine. Le dôme semble prendre sa source au niveau du site forestier et s'écoule vers la Prairie parallèlement au talus et au bras mort, il pourrait alors s'agir d'un ancien fossé comblé avec des matériaux plus perméables et susceptibles de se recharger en eau plus rapidement. Une autre possibilité serait qu'au niveau du dôme la nappe profonde et captive soit capable de remonter vers les horizons plus superficiels, la présence de gaines sableuses dans les profils de sol et l'origine marine des sédiments de la plaine inondable peuvent appuyer cette hypothèse. Quoiqu'il en soit cette anomalie piézométrique disparaît dès que la nappe superficielle est suffisamment re-alimentée par le versant. L'impact de la dilution dans le bas des transects est donc réel mais sa durée reste limitée à l'échelle de l'année.

Au final, le suivi des hauteurs d'eau sur l'ensemble du terrain expérimental confirme que plusieurs sources participent au régime hydrologique de la zone riveraine, et que leurs contributions respectives dépendent du niveau d'hygrométrie général du bassin versant. De façon notable, deux périodes peuvent être distinguées: d'un côté la période de très basses eaux et de début de recharge qui correspond à la fin de l'Été et au tout début de l'Automne (2 mois par an), et de l'autre côté le reste de l'année que l'on qualifiera par opposition de période de hautes eaux. Au cours de cette période l'alimentation en eau de la zone riveraine se fait majoritairement par le versant, alors qu'en basses eaux la nappe superficielle est plutôt soutenue par de l'eau provenant des écoulements le long du dôme et/ou par des remontées de l'aquifère confiné. Au cours de ces deux périodes, le bras mort joue le rôle de récupérateur des flux hydriques. C'est également le cas en période de crue du cours d'eau, celui-ci se déverse dans la plaine alluviale puis est repris par le bras mort qui rejoint le cours d'eau plus loin en aval de la zone humide. La contribution de l'aquifère profond à l'alimentation du cours d'eau a été estimée comme étant relativement stable sur l'ensemble de l'année, alors que celles de la nappe de versant et de la nappe superficielle de la zone riveraine sont plus susceptibles de varier selon les précipitations et le niveau de l'eau dans la zone humide (Figure 9).

L'utilisation des teneurs en nitrate et chlorure de l'eau provenant de chacun des puits installés sur la zone riveraine s'est révélée utile pour approfondir ces relations et tenter de quantifier les flux. Ainsi, la nappe de versant est bien illustrée par les teneurs élevées en nitrate et moyennes en chlorures des piézomètres profonds installés au-dessus du talus de ceinture (cf. PF12, Figure 7). De même, l'aquifère profond se distingue par des teneurs très faibles en nitrate et chlorure (cf. PF3, Figure 7). On retrouve les mêmes caractéristiques chimiques dans le puit profond (DW1, 32 m) situé en haut de versant et dans l'eau de pluie, ce qui laisse à penser que la nappe captive est alimentée par des précipitations qui s'infiltrent rapidement au travers du faciès fracturé. Un troisième pôle est identifié dans la nappe du site forestier et se caractérise par de très fortes teneurs en chlorures (Figure 7). Le bras mort, qui

prend naissance auprès de ce site d'étude, montre des concentrations en chlorure qui fluctuent entre les fortes valeurs de la Forêt et les faibles concentrations de la nappe profonde.

Quant au cours d'eau, sa composition en nitrate et chlorure se révèle être relativement stable au cours de l'année et, d'après la Figure 7, semble correspondre à un mélange entre les 3 réservoirs précédemment cités.

Concernant la différence, mise en évidence par l'hydrogéologie, entre le bras mort et le cours d'eau, celle-ci a été confirmée par une rapide campagne de prélèvements effectués le même jour, d'amont en aval et à la fois dans le bras mort et le cours d'eau (Figure 10, Tableau 6).

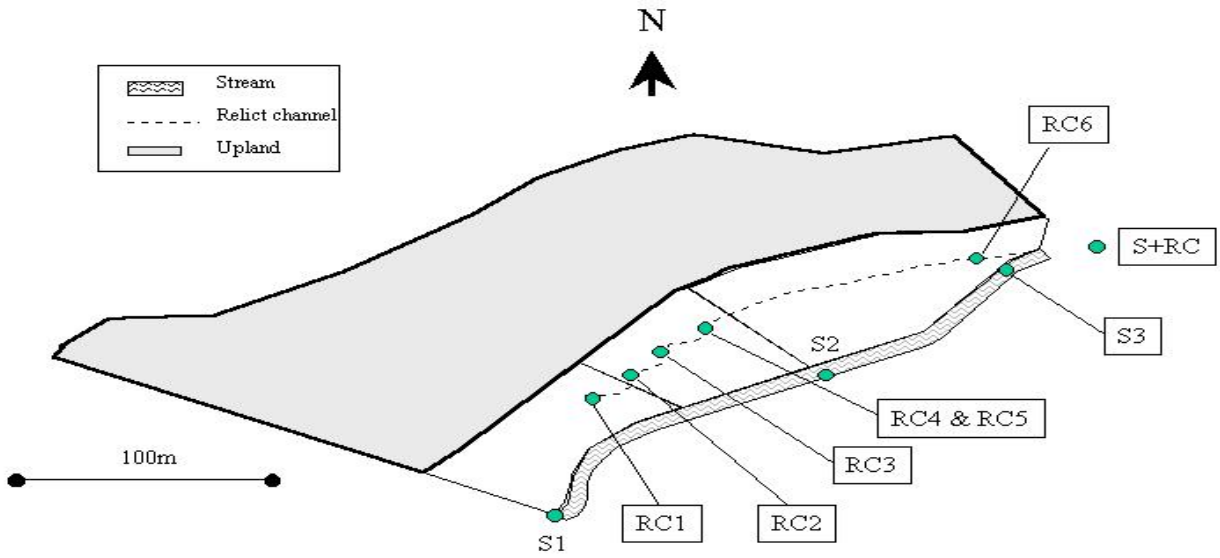


Figure 10: Schéma des points de prélèvements des échantillons d'eau dans le cours d'eau (S) et dans le bras mort (RC) d'amont en aval.

Tableau 6: Résultats des analyses effectuées sur l'échantillonnage décrit Figure 10.

		N-NO3(mg L^{-1})	Cl (mg L^{-1})	pH	Cond.(µS)	Nt
Bras Mort	RC1	0.59	45.7	6.4	354	2.00
	RC2	0.47	48.7	6.2	376	2.02
	RC3	0.20	42.7	6.4	346	1.58
	RC4	0.20	41.5	6.8	334	1.94
	RC5	0.19	51.7	6.2	398	1.25
	RC6	0.20	43.7	7.5	377	2.13
Cours d'eau	S1	4.12	29.3	7.6	247	5.24
	S2	4.22	29.5	7.6	246	5.22
	S3	4.08	31.5	7.7	247	5.31
	S+RC	4.15	2.7	7.3	248	5.03

Les résultats obtenus montrent clairement que le cours d'eau et le bras mort ne présentent pas les mêmes caractéristiques chimiques. Le cours d'eau draine l'ensemble de la zone riveraine et récupère l'eau de l'aquifère profond et l'eau provenant du versant ayant subit les processus de rétention.

Le recyclage des nitrates transportés par la nappe de versant est confirmé par l'étude des concentrations en nitrate et chlorure le long des transects. En effet, il apparaît clairement

que la disparition des nitrates observée dans la partie haute des transects est le résultat d'activités biologiques. L'assimilation par la végétation et la faune et flore microbienne ainsi que la dénitrification sont les principaux processus pouvant être mis en cause et qui seront étudiés dans les chapitres suivants. Dans les parties basses des transects, plus proches du bras mort, une dilution a lieu avec une eau moins chargée en nitrate provenant de l'aquifère profond et/ou des écoulements dans le dôme piézométrique. Cette dilution reste cependant limitée dans le temps (2 mois par an) et n'empêche pas que les processus biologiques précédemment cités puissent participer encore au recyclage de l'azote. L'utilisation de l'abondance naturelle de l'azote 15 (^{15}N) explicité dans le chapitre 3 confirmera ce propos.

En prenant soin d'éviter la zone de dilution potentielle, nous avons tenté d'estimer les flux entrants dans la zone humide et le pourcentage de rétention de l'azote pour chacun des sites d'étude et pour l'ensemble de la zone humide. Les flux estimés sont relativement stable d'un site à l'autre et peuvent être généralisés à l'ensemble de la bande riveraine, ils s'échelonnent de 2-8 L mn^{-1} en Été à 23-28 L mn^{-1} en Hiver. Les forts taux de rétention de l'azote estimés confirment que des processus biologiques ont bien lieu et qu'ils éliminent les nitrates transportés par la nappe. A l'échelle de toute la zone riveraine, l'Hiver semble être la saison la plus efficace en terme de rétention des nitrates et ce, malgré des flux d'entrée plus importants.

Au final, l'hydrologie de la zone riveraine étudiée lors de cette thèse est donc plus complexe que généralement admis dans les publications. La diversité des sources d'eau et des réservoirs sont des paramètres relativement pérennes dans le temps et qui doivent être analysés au mieux afin de comprendre le fonctionnement de la zone humide. D'un autre côté, la complexité des écoulements peut dépendre de la géomorphologie intrinsèque du versant et de la zone mais aussi des aménagements humains, le rôle du bras mort en est un exemple frappant. Quoiqu'il en soit cette étude de l'hydrologie de nos sites d'étude a mis en évidence la participation de processus biologiques à la rétention de l'azote. La suite de cette thèse se propose donc d'approfondir ces activités biologiques afin d'en comprendre les mécanismes.

L'un des processus majeurs de rétention de l'azote au sein des zones humides de fonds de vallée est la dénitrification. La bibliographie précédente a montré que de nombreux de facteurs entraient dans sa régulation et que leur détermination restait délicate. Entre autres, l'impact du couvert végétal est, dans ce domaine, encore une fois discuté. De même, les activités dénitrifiantes sont souvent appréhendées en termes de surface bien que le recyclage de l'azote d'une nappe d'eau soit plutôt le fait d'un volume de contact entre cette dernière et le sol. Dans ce contexte, nous avons évalué l'importance des différentes couvertures végétales des sites d'étude sur la rétention de l'azote en générale et sur les facteurs limitant de la dénitrification en particulier, à l'aide de mesures d'activités dénitrifiantes *in situ* et potentielle. Dans le même temps, la structure spatiale en trois dimensions de la dénitrification a été étudiée au sein de chaque site d'étude, selon la profondeur et le long des transects, afin d'appréhender l'effet du gradient d'hydromorphie sur les facteurs limitant de la dénitrification et de mettre en évidence l'importance de la zone d'interface entre les zones humides et les terres agricoles qu'elles drainent. Les autres processus de transformation de l'azote dans le sol (Minéralisation, Nitrification, Immobilisation bactérienne) ainsi que les caractéristiques pédologiques (pH, granulométrie, humidité, teneurs en nitrate, ammoniaque et azote organique…) ont eux aussi été étudiés.

Running Head: Denitrification dynamics along riparian catenas.
Article type: General Research

CHAPITRE II

Three-Dimensional and Seasonal Dynamics of denitrification along catenas in three riparian wetlands with different vegetation cover

(Submitted 7th November 2000 to Biogeochemistry)

Authors: Jean-Christophe Clément, Gilles Pinay, Pierre Marmonier
U.M.R. 6553 - ECOBIO, Université de Rennes I, Avenue du Général Leclerc, F-35042 RENNES cedex, France. Tel. 33 (0) 2 99 28 14 19 Fax: 33 (0) 2 99 28 16 17
Jean-christophe.clement@univ-rennes1.fr
Gilles.pinay@univ-rennes1.fr
Pierre.marmonier@univ-rennes1.fr

KEY WORDS: riparian zone, wet meadow, denitrification, nitrogen cycling

ABSTRACT

We investigated the seasonal pattern of *in situ* and potential denitrification rates in soil profiles along the catenas formed at the upland-wetland interface in riparian wetlands. We evaluated, on a seasonal basis, the respective importance of the vegetation cover, i.e. forest, shrub and meadow, and the hydromorphic gradient as factors limiting denitrification. Whatever the season, the vegetation type or the lateral position within the riparian wetlands, strong significant gradients of both *in situ* and potential denitrification rates were measured along the soil profile. This confirms that the upper organic soil horizon is the most active, when in contact with the groundwater. In deeper soil horizons, denitrification activity was low but when at its maximum was capable of contributing significantly to the reduction of groundwater nitrate load. Along the soil catena, the denitrifying bacteria pool of the upper soil horizon did not vary significantly on a seasonal basis despite the large seasonal groundwater fluctuations. In the upper part of the catena, close to the upland area, the most important denitrification-limiting factor was the lack of anaerobic conditions. In the lower part of the catena, the denitrification-limiting factor gradually shifted from anaerobiosis to nitrate supply. *In situ* denitrification rates in the forested, shrubby and wet meadow sites were not significantly different. This result underlines the importance of the topography of the valley rather than the vegetation cover in controlling denitrification activity in riparian wetlands.

INTRODUCTION

Once considered of little value, riparian wetlands are now recognized for their roles in maintaining water quality and sustaining biodiversity far in excess of their aerial extent in the landscape (Haycock et al. 1997, Naiman and Decamps 1997). Indeed, since Peterjohn & Correll (Peterjohn and Correll 1984) numerous studies have shown that groundwater nitrate concentrations may decrease substantially as groundwater flows through riparian zones en route to the stream, and hence, improve water quality (among other things - Jordan et al. 1993, Pinay et al. 1993, Hanson et al. 1994, McClain et al. 1994, Nelson et al. 1995, Hill 1996, Hedin et al. 1998). Microbial transformation, i.e. denitrification or immobilization, and plant uptake are considered to be responsible for these buffering capabilities. Plant uptake and microbiological immobilisation represent a temporary storage system since nitrogen will eventually return to the system *via* death and decomposition. In contrast, denitrification constitutes a real sink for nitrate since it is transformed to gaseous products (N_2, NO, N_2O) which are emitted to the atmosphere (Knowles 1982).

Environmental factors which affect microbiological denitrification have been identified (Firestone 1982, Tiedje 1988) and investigated in several field studies (Ryden 1983, Schipper et al. 1993, Pinay et al. 1995). Denitrification is controlled by soil moisture, and temperature (Grundmann and Rolston 1987), nutrient supply as nitrate and soluble organic matter (Reddy et al. 1982, Starr and Gillham 1993), and soil texture (Pinay et al. 2000). Spatial and temporal variations of these parameters and their interactions are often linked to the high variability of soil denitrification rates (Smith 1980, Groffman and Tiedje 1988, Grundmann et al. 1988). At the soil scale, this denitrification variability is under the control of pore space structure and organic matter availability (Sextone et al. 1985, Parkin 1987). These two variables are controlled by land use (Balesdent 1996). Yet comparative studies on denitrification rates under pasture and cropped soils have yielded contradictory results: some have found that denitrification rates were higher under pasture (Weier et al. 1993, Lensi et al. 1995), while others found that the cropped soils had higher rates (Bijay-Singh et al. 1989). These differences could be explained by the fact that these studies were based on potential rates and did not take into account the importance of the pore space structure and soil clods distribution on *in situ* denitrification rates (Parry et al. 1999). At a larger scale, riparian ecosystems are often described as complex environments that are spatially heterogeneous, where denitrification is controlled by the interaction between flood hydraulics, floodplain topography, soil conditions, nitrogen concentration and diffusion pattern (Groffman et al. 1996, Stewart et al. 1998, Hill et al. 2000). Several recent studies have demonstrated the importance of the upland-wetland interface in controlling diffuse nitrate fluxes from upslope (see Hill 1996 and Haycock et al. 1997 for reviews). Most of these studies have been focused on forested areas; the few which have reported on the role of grassed riparian sites are contradictory. Some studies have demonstrated a low efficiency in nitrate removal compared to the forested riparian zones (Osborne and Kovacic 1993, Hubbard and Lowrance 1997), while others observed substantial removal capacity of riparian meadows (Haycock et al. 1993, Schnabel et al. 1996, Addy et al. 1999). At the riparian zone scale these apparently divergent results might have arisen from comparisons of sites with different hydrogeomorphic condition.

The objective of this study was to evaluate the importance of different vegetation cover, i.e. riparian forest, shrub and meadow, on denitrification activity in adjacent riparian zones situated in the same hydrogeomorphic stream valley system. We investigated the seasonal pattern of *in situ* and potential denitrification rates in a three-dimensional perspective by sampling soil profiles along the catenas formed at the upland-wetland

interface. We also evaluated on a seasonal basis the respective importance of the vegetation cover and the hydromorphic gradient as factors limiting denitrification.

MATERIALS & METHODS

Study area

The study was conducted in a riparian wetland located 10 km south-west of the Mont Saint-Michel Bay (Brittany, France: 48.3°N; 1.3°W). The wetland borders a 4th order stream (the Hermitage River) which has its source at 5 km upstream. Mean annual discharge of the Hermitage River is around 90 L s^{-1}. The region has a mild oceanic climate characterized by mild, humid weather all the year round. Annual rainfall ranged between 850 and 900 mm during the study period. The annual mean temperature was 12.5°C, July and August being the warmest months with average temperatures ranging from 15°C to 20°C. The lowest average temperatures were measured in November and December. The landscape is predominantly agricultural, with corn and wheat as dominant crops. The upland is an arable field with a wheat/maize rotation. The agricultural fields has a bank (3 m high) at its downslope end where it borders the wetland. The study site is about 80 m wide but our investigations are focused on the lower 15 m on the hill slope (Figure 1(A)).

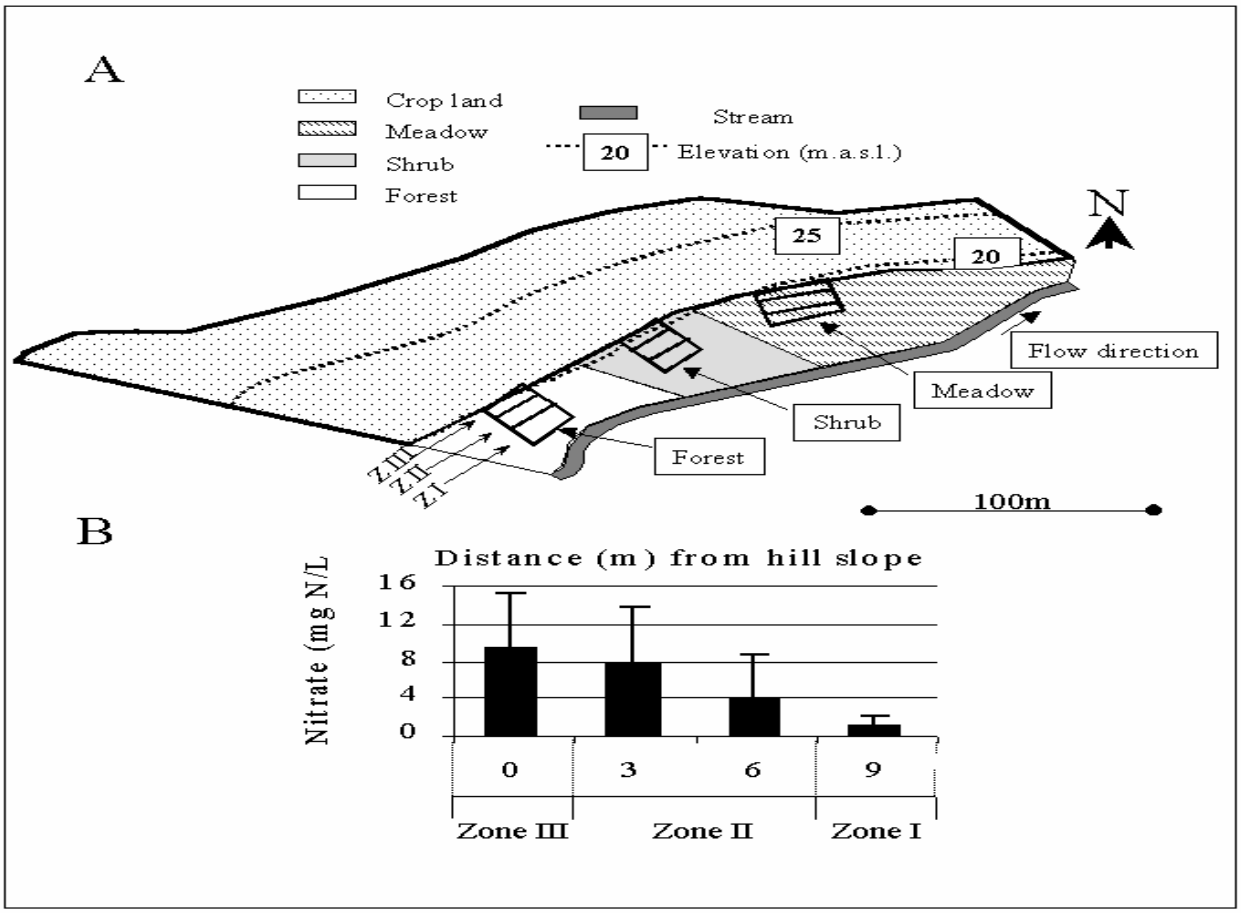


Figure 1. A: Location of the study site and map of the studied wetland. B: Average nitrate concentration (with standard deviation, n = 138) in groundwater below the soil catena.

Within this riparian wetland, three sites were selected with different vegetation covers: i) a forested site with typical wetland trees, i.e. oaks (*Quercus sp.*) and willows (*Salix alba*), ii) a shrubby site characterized by abundant shrubs (*Salix alba*, *Rubus fructicosus*,

Polygonum amphibium, *Phalaris arundinacea*, and *Calystegia sepium*) without mature trees, and iii) a meadow site characterized by herbaceous species (*Holcus lanatus*, *Dactylis glomerata*, *Agrostis stolonifera*, *Juncus effusus*, *Glyceria fluitans*, and *Alopecurus geniculatus*). Each study site has been divided into three zones (Figure 1(B)) corresponding to the hydromorphic gradient from hill slope to wetland. Each zone was characterized by different dominant plant species. Zone III at the hill slope boundary was mainly characterized by *Rubus fructicosus* and *Urtica dioica* in both the forested and the shrubby sites, while *Holcus lanatus* and *Dactylis glomerata* dominated in the meadow site. Zone II was dominated by meso-hygrophilous vegetation such as *Hedera helix* and *Urtica dioica* in the forested site, *Holcus lanatus* and *Polygonum amphibium* in the shrubby site, and *Agrostis stolonifera* and *Juncus effusus* in the meadow site. The most hydromorphic zone (Zone I) was characterized by hygrophilous vegetation such as *Phalaris arundinacea* and *Calystegia sepium* in both the forested and the shrubby site, while *Glyceria fluitans* and *Alopecurus geniculatus* dominated in the meadow site.

The soils belong to the reductisol series with an organic upper horizon (0-25 cm), a clay intermediary horizon with ferric oxidation spots (30-75 cm) and a deeper inorganic horizon resulting from weathering of the schist substrate.

Sampling strategy and analytical procedures

Three catenas were selected along groundwater flow paths identified by a bromide tracing experiment. The catenas were adjacent but had different vegetation, i.e. wood, shrub and meadow. Three zones were identified within each catena as a function of the average groundwater table depth and vegetation communities. Groundwater was sampled using piezometers. Dissolved nitrate, nitrite and ammonia were analysed colorimetrically using an autoanalyser following Technicon methods (Technicon 1977). Soils were sampled in the three sites at each season, between autumn 1998 and summer 1999 using a manual soil corer. Within each catena three soil replicates were sampled in each of the three zones and at three depths (0-25 cm, 25-50 cm, 50-75 cm) to determine lateral and vertical stratification of denitrification using the static core acetylene inhibition method (Yoshinari and Knowles 1976). The upper 25 cm of soil were taken after litter was discarded. All samples were stored at 4°C before analysis. *In situ* denitrification (DNT) was assayed immediately after sampling. Three intact cores sampled in each of the 3 depths in the 3 zones of the 3 sites were incubated in glass flasks five times larger than the soil core. The flasks were capped with rubber serum stoppers and then amended with acetone-free acetylene to bring the atmospheric concentration to 10 KPa (10% V/V) acetylene and 90 KPa air. Samples were incubated at field temperature and DNT rates were calculated as the rate of nitrous oxide (N_2O) accumulation in the head space after 2 hours of incubation. Head space samples were removed from all cores and stored in evacuated collection tubes (Venoject - Terumo Scientific N.J.). Gas samples were collected by syringe through a septum and analysed by gas chromatograph for N_2O (Chrompack 9001 - CP).

Denitrification enzyme activities (DEA) were measured from three replicates of each sample using the procedure of Smith and Tiedje (1979). Four sets of subsamples of each soil sample were made anoxic by flushing with N_2 and incubated for 8 hours with acetone-free acetylene to bring the soil atmosphere concentration to 10 Kpa (10% V/V) acetylene and 90 KPa air at mean soil temperature. The first set was incubated with acetylene under N_2 atmosphere alone and referred to as ANA. One set of subsamples was amended with nitrate (10 µg NO_3-N g^{-1} fresh soil) and referred to as ANAn; a second set was amended with carbon (4 mg glucose g^{-1} fresh soil) referred to as ANAc. A last set was amended with both nitrate and carbon (10 µg NO_3-N g^{-1} fresh soil + 4 mg glucose g^{-1} fresh soil) referred to as DEA.

Denitrification rates are calculated as the rate of nitrous oxide (N_2O) accumulation in the head space between 4 hours and 8 hours of incubation.

Soils samples were extracted with 100 mL of K_2SO_4 (35 g L^{-1}). The extracts were filtered and analysed for NH_4-N and NO_3-N and dissolved N organic using a Technicon auto analyser (Technicon 1977). Nitrate was analysed colorimetrically by the Griess-Ilosvay method (Keeney and Nelson 1982) after reduction by percolation on copperized cadmium column. Ammonia was measured following the Indophenol Blue Method (Keeney and Nelson 1982). Dissolved N organic was measured on the K_2SO_4 extract by oxidation to nitrate with potassium persulphate at 120°C, analysed by the above mentioned procedure. Soil water content was measured by drying fresh soil at 70°C for 48 hours. Net nitrification and net mineralization were only evaluated on the 0-25 cm soil layer. Net nitrogen mineralization was calculated from measured changes in the mineral-N content of largely undisturbed soil isolated inside polyethylene bags allowing air to pass through but preventing leaching (Pastor et al. 1987). After one month of incubation in the field, nitrogen content in the incubated bags was compared to the soil nitrogen content at the beginning of the incubation. Net nitrification was estimated from measured changes in NO_3-N content during exposure in the same incubated soil samples.

Soil and air temperatures, and rainfall were continuously measured on field using probes connected to a Campbell data logger. Water table elevation was measured in each sampling location, using a grid network of piezometers installed in each riparian site.

Statistical analyses

As a first step, spatio-temporal structure of the data set was studied using multivariate analysis (Principal Components Analysis; PCA). In a second step, differences between sites, zones, depths, and seasons for water content (%H_2O), ammonium content (N-NH_4), nitrate content (N-NO_3), dissolved organic nitrogen content (DNO), *in situ* denitrification rate (DNT), potential denitrification rates (DEA) and denitrification limiting factors (ANA, ANAc, ANAn) were tested using the Kruskal-Wallis non-parametric ANOVA. Differences were considered statistically significant at the $p<0.05$. All statistical analyses were performed on Statistica for Windows (Stat Soft, Tulsa, OK, USA).

RESULTS

Groundwater level fluctuations

Groundwater level in the wetland followed the same pattern as the stream with high water levels in late winter and early spring and low water levels in summer and early autumn (Figure 2). Similar patterns were observed at the three sites, even though a groundwater gradient exists from the forested wetland to the meadow, the last being the wettest, due to its downstream position within the valley. At each site there was also a significant groundwater level gradient. In the zone III, i.e. at the upland-wetland interface, the groundwater level had the largest amplitude of variation within the year, i.e. over 2 metres, while in zone II and I, the water level variation progressively decreased, maintaining the water level closer to the soil surface. On an annual basis, groundwater nitrate concentration decreased significantly from the upper part of the catena to the lowest part in all 3 sites (Figure 1(B)). The slight increase in ammonium (see chapter I) measured in the lower part of the transect (from 0.45 to 0.48 mg N L^{-1}) cannot explain the change in nitrate concentration by dissimilative reduction.

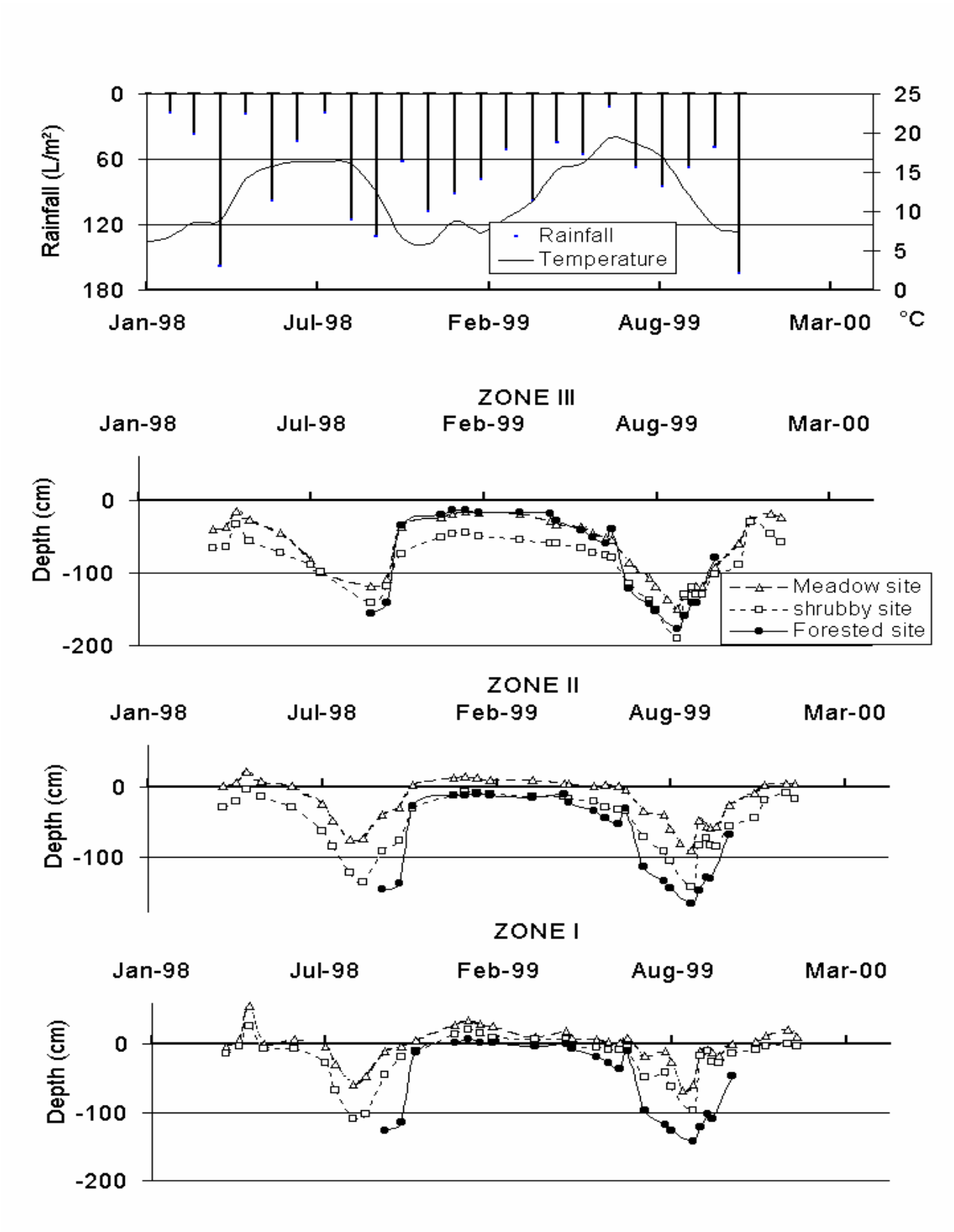


Figure 2. Rainfall, air temperature, and water table elevation measurements in the three sampling zones of the 3 study sites between January 1998 and March 1999.

Vertical pattern

Strong gradients with depth were observed at all the sites for the nitrogen-related parameters. PCA analyses performed on each station separately (see appendix 1) highlighted these vertical differences: the first component, which explained the largest part of the variance (48.9%, 41.2%, and 55% of the variance for meadow, shrubby, and forested sites respectively) separated the 0-25 cm layer from the deeper soil layers. Moreover, a Kruskal-Wallis non-parametric ANOVA of ranks confirmed the significant differences between depths for all sites (Table 1). This strong vertical pattern was also found in soil organic matter, organic nitrogen, and carbon along the 3 catenas (Table 2). Moreover, soil $N\text{-}NH_4$ concentrations (Table 3) were always significantly higher in the 0-25 cm upper organic horizon (between 1.84 and 8.13 mg N g^{-1} of dry soil) than in the deeper soil layers (between 0.90 and 3.20 mg N g^{-1} of dry soil). Similarly, soil $N\text{-}NO_3$ concentration (Table 3) presented the same pattern with higher values in the 0-25 cm layer (between 3.07 and 8.90 mg N g^{-1} of dry soil), than in the deeper layers (between 1.08 and 4.81 mg N g^{-1} of dry soil). This vertical pattern was also observed for *in situ* denitrification (DNT) and potential denitrification (DEA) (Figures. 3 & 4). Yet, despite the steep gradient of DNT rates measured along the soil profiles, some significant activities (from 0.004 to 0.5 µg N g^{-1} dry soil day^{-1}) could be detected down to 75 cm deep (Figure 3).

Table 1: Inter depth differences in soil variables for the three riparian sites, the three zones and the four seasons. Non parametric ANOVA (Kruskal-Wallis Test).

	%H2O		N-NH4		N-NO3		DNO		DNT		ANA		ANAc		ANAn		DEA	
Sites	H	p	H	p	H	p	H	p	H	p	H	p	H	p	H	p	H	p
Meadow	41,66	***	45,17	***	35,37	***	10,12	**	14,33	***	25,98	***	25,79	***	50,22	***	60,19	***
Shrub	59,52	***	16,36	***	21,73	***	12,89	**	16,32	***	28,13	***	32,49	***	57,49	***	70,9	***
Forest	54,79	***	24,06	***	38,8	***	42,84	***	34,41	***	47,57	***	47,21	***	65,12	***	69,94	***

ns: non significant ($p > 0.05$); * significant at $0.01 \leq p \leq 0.05$; ** significant at $0.001 \leq p \leq 0.01$; *** significant at $p \leq 0.001$.

Table 2: Soil organic matter, carbon and nitrogen contents by zone and depth in the three study sites.

		Zone I			Zone II		
		Organic Matter %	C mg/g	N mg/g	Organic Matter %	C mg/g	N mg/g
Meadow	0-25cm	12.77 ± 1.19	53.24 ± 4.77	4.96 ± 0.35	13.57 ± 1.46	61.45 ± 7.31	5.85 ± 0.65
	25-50cm	3.47 ± 0.13	7.72 ± 0.44	0.84 ± 0.03	3.47 ± 0.09	8.19 ± 0.31	0.96 ± 0.02
	50-75cm	2.40 ± 0.21	4.55 ± 0.31	0.45 ± 0.05	3.03 ± 0.18	5.62 ± 0.46	0.68 ± 0.02
Shrub	0-25cm	7.99 ± 0.25	34.64 ± 1.73	3.20 ± 0.10	11.10 ± 1.08	46.79 ± 6.31	4.18 ± 0.47
	25-50cm	4.11 ± 0.20	11.38 ± 0.87	1.13 ± 0.09	4.58 ± 0.11	11.12 ± 0.30	1.15 ± 0.02
	50-75cm	2.37 ± 0.06	4.61 ± 0.27	0.42 ± 0.02	3.28 ± 0.06	5.97 ± 0.09	0.63 ± 0.01
Forest	0-25cm	20.30 ± 1.70	94.18 ± 7.19	7.29 ± 0.44	8.30 ± 0.13	57.88 ± 8.53	4.09 ± 0.44
	25-50cm	3.53 ± 0.18	11.44 ± 1.30	1.12 ± 0.13	3.83 ± 0.27	13.46 ± 1.58	1.27 ± 0.13
	50-75cm	2.17 ± 0.20	4.60 ± 0.66	0.50 ± 0.07	2.23 ± 0.23	6.06 ± 1.06	0.64 ± 0.10

		Zone III		
		Organic Matter %	C mg/g	N mg/g
Meadow	0-25cm	6.20 ± 4.77	25.62 ± 0.63	2.17 ± 0.10
	25-50cm	3.9 ± 0.23	12.48 ± 1.27	1.28 ± 0.10
	50-75cm	2.50 ± 0.19	7.41 ± 1.41	0.82 ± 0.13
Shrub	0-25cm	7.04 ± 0.29	27.69 ± 1.60	2.77 ± 0.16
	25-50cm	3.48 ± 0.01	20.17 ± 0.36	1.09 ± 0.10
	50-75cm	3.26 ± 0.10	6.54 ± 0.13	0.73 ± 0.10
Forest	0-25cm	8.60 ± 0.79	38.41 ± 3.05	3.12 ± 0.15
	25-50cm	4.70 ± 0.23	15.12 ± 0.83	1.69 ± 0.10
	50-75cm	2.90 ± 0.10	7.11 ± 0.13	1.09 ± 0.10

Table 3: Annual averages and standard errors of the mean of soil nutrient contents and nitrogen mineralisation in the soil profile along the riparian catena.

		Zone I				Zone II			
		NH4 mg N/kg	NO3 mg N/kg	NMIN mg N/kg/d	NITR mg N/kg/d	NH4 mg N/kg	NO3 mg N/kg	NMIN mg N/kg/d	NITR mg N/kg/d
Meadow	0-25cm	5.35 ± 1.22	3.98 ± 0.87	0.31 ± 0.08	0.08 ± 0.05	3.70 ± 0.52	4.42 ± 0.51	0.54 ± 0.12	0.04 ± 0.03
	25-50cm	1.45 ± 0.23	1.52 ± 0.25			2.09 ± 0.61	2.32 ± 0.31		
	50-75cm	0.90 ± 0.15	1.45 ± 0.66			1.33 ± 0.43	1.77 ± 0.37		
Shrub	0-25cm	8.13 ± 2.32	4.19 ± 0.19	0.23 ± 0.07	0.07 ± 0.05	2.71 ± 0.43	7.54 ± 1.81	0.29 ± 0.17	"-0.05 ± 0.07
	25-50cm	3.20 ± 0.70	2.95 ± 0.87			1.41 ± 0.23	2.66 ± 0.46		
	50-75cm	1.95 ± 0.51	2.10 ± 0.80			0.94 ± 0.18	3.13 ± 0.92		
Forest	0-25cm	7.81 ± 1.83	3.07 ± 0.75	0.10 ± 0.11	0.08 ± 0.07	4.03 ± 0.77	4.41 ± 0.51	0.26 ± 0.12	0.10 ± 0.05
	25-50cm	1.48 ± 0.40	2.00 ± 0.37			1.71 ± 0.36	2.05 ± 0.54		
	50-75cm	1.40 ± 0.25	1.40 ± 0.74			1.51 ± 0.43	1.08 ± 0.15		

		Zone III			
		NH4 mg N/kg	NO3 mg N/kg	NMIN mg N/kg/d	NITR mg N/kg/d
Meadow	0-25cm	2.68 ± 0.46	4.93 ± 0.49	0.29 ± 0.09	0.55 ± 0.17
	25-50cm	1.43 ± 0.19	4.35 ± 0.99		
	50-75cm	1.05 ± 0.14	2.73 ± 0.64		
Shrub	0-25cm	1.84 ± 0.28	8.90 ± 1.34	0.69 ± 0.16	0.92 ± 0.12
	25-50cm	1.85 ± 0.37	4.81 ± 0.92		
	50-75cm	1.15 ± 0.32	3.66 ± 1.07		
Forest	0-25cm	3.24 ± 0.51	5.39 ± 0.84	1.41 ± 0.33	1.40 ± 0.35
	25-50cm	2.34 ± 0.58	2.54 ± 0.42		
	50-75cm	1.50 ± 0.33	1.32 ± 0.11		

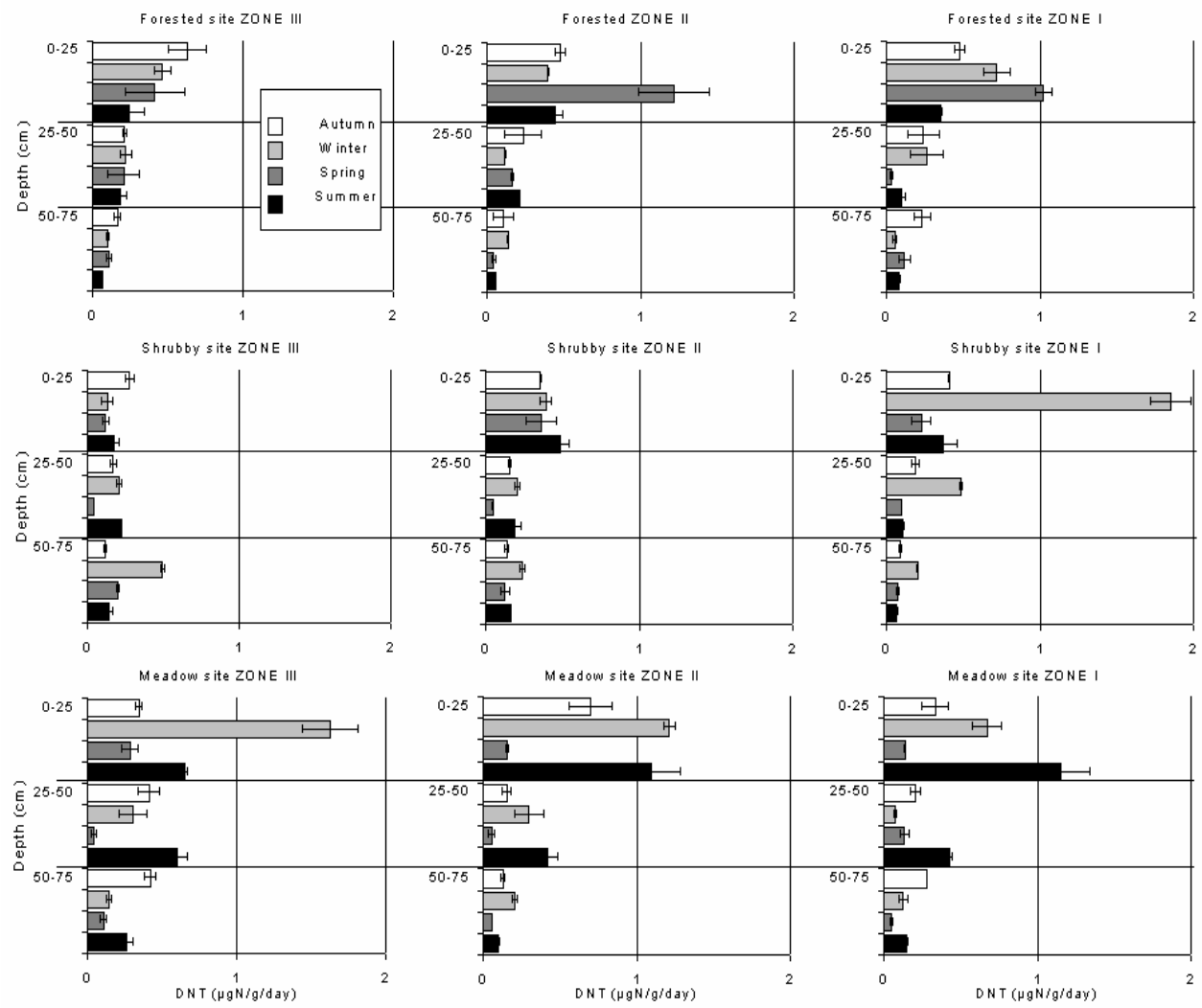


Figure 3.Seasonal changes of *in situ* denitrification (mean and standard errors, for n = 3) in soil profiles along the 3 catenas.

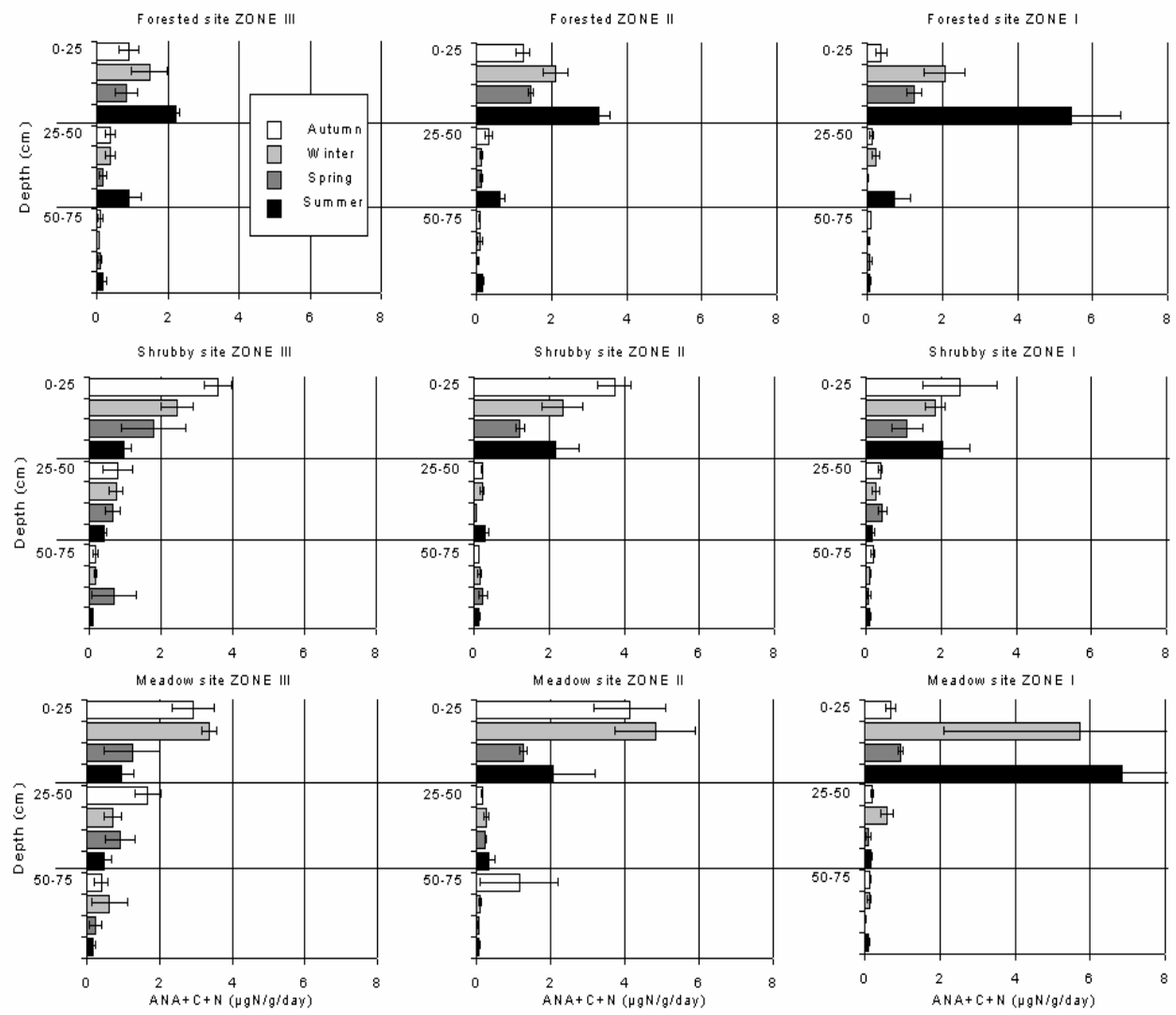


Figure 4. Seasonal changes of potential denitrification (DEA) (mean and standard errors, for n = 3) in soil profiles along the 3 catenas.

Importance of the vegetation cover versus lateral gradient

Soil characteristics and microbial processes involved in the nitrogen cycle of the upper soil layer of the 3 different sites, i.e. forested, shrubby and meadow wetlands were compared zone by zone for the 4 different seasons (Table 4). For most of the soil parameters, differences between sites were not significant, whatever the season or the zone considered. Even so, there are some significant differences between sites for *in situ* denitrification (DNT) and potential denitrification (DEA). However, no consistent pattern could be found, either from the zone or the season perspective. For instance, *in situ* denitrification (DNT) is significantly higher in the zone III of the forested site in autumn, in zone II of the meadow site and zone I of the shrubby site in winter, in zones I & II of the forested site in spring and not significantly different between sites in summer (Figure 3). Similarly, no clear pattern could be found for the nitrogen mineralization (MIN) and nitrification (NITR) processes, neither by site nor by season (Tables 3 & 4).

However, when the data sets of the 3 sites were pooled by zone, there were significant differences between zones (Table 5). Net mineralization (NMIN) was significantly higher in the upper zone (Zone III) than the lower ones (Table 3). The same pattern occurred for net nitrification (NITR) (Fig. 8). A significant lack of nitrification in zone I was noticeable when compared to NMIN rates. It entailed an accumulation of ammonium in these lower zones (Table 3). Due to the large inter-site variability (Table 4), no significant differences were found in the *in situ* denitrification rates (DNT) between zones when sites were pooled by zone (Table 5).

Table 4: Inter sites differences for the 0-25cm layer in the three zones and the four seasons. Non parametric ANOVA (Kruskal-Wallis Test).

	Autumn						Winter					
	Zone I		Zone II		Zone III		Zone I		Zone II		Zone III	
Soil variables	H	p	H	p	H	p	H	p	H	p	H	p
pH	3,29	ns	1,69	ns	1,15	ns	3,28	ns	1,69	ns	1,15	ns
%H2O	5,69	ns	0,62	ns	2,75	ns	3,82	ns	3,82	ns	5,42	ns
N-NH4	5,06	ns	0,62	ns	3,28	ns	0,62	ns	0,62	ns	0,62	ns
N-NO3	4,35	ns	1,68	ns	4,62	ns	5,42	ns	6,48	*	3,46	ns
DNO	2,75	ns	2,49	ns	2,75	ns	4,27	ns	5,6	ns	3,29	ns
NITR	5,79	ns	5,6	ns	3,29	ns	7,2	*	7,2	*	3,2	ns
NMIN	5,79	ns	7,2	*	3,47	ns	5,6	ns	5,95	ns	5,6	ns
DNT	4,35	ns	5,95	ns	6,48	*	5,42	*	5,6	ns	7,2	*
ANA	7,2	*	5,6	ns	7,2	*	7,2	*	5,6	ns	5,06	ns
ANAc	5,6	ns	5,6	ns	7,2	*	6,48	*	5,6	ns	2,4	ns
ANAn	7,2	*	7,2	*	7,2	*	4,35	ns	7,2	*	5,6	ns
DEA	7,2	*	7,2	*	7,2	*	7,2	*	5,6	ns	7,2	*

	Spring						Summer					
	Zone I		Zone II		Zone III		Zone I		Zone II		Zone III	
Soil variables	H	p	H	p	H	p	H	p	H	p	H	p
pH	3,29	ns	1,69	ns	1,15	ns	3,29	ns	1,69	ns	1,15	ns
%H2O	5,06	ns	5,6	ns	7,2	*	5,95	ns	0,35	ns	0,35	ns
N-NH4	2,75	ns	5,95	ns	6,48	*	2,4	ns	2,75	ns	5,95	ns
N-NO3	5,42	ns	5,42	ns	0,8	ns	4,35	ns	1,68	ns	0,26	ns
DNO	7,2	*	5,07	ns	5,07	ns	no data		no data		no data	
NITR	5,69	ns	2,75	ns	7,2	*	5,95	ns	7,2	*	3,29	ns
NMIN	7,2	*	7,2	*	7,2	*	7,2	*	6,49	*	6,49	*
DNT	7,2	*	7,2	*	5,95	ns	3,46	ns	5,95	ns	5,42	ns
ANA	7,2	*	3,28	ns	7,2	*	7,2	*	5,6	ns	6,48	*
ANAc	7,2	*	1,42	ns	5,42	ns	7,2	*	1,42	ns	5,95	ns
ANAn	7,2	*	6,48	*	2,48	ns	5,42	ns	5,6	ns	5,95	ns
DEA	5,6	ns	0,8	ns	3,2	ns	6,48	*	5,42	ns	5,6	ns

ns: non significant ($p > 0.05$); * significant at $0.01 \leq p \leq 0.05$; ** significant at $0.001 \leq p \leq 0.01$; *** significant at $p \leq 0.001$.

Table 5: Inter zones differences for the 0-25cm layer at the four seasons. Non parametric ANOVA (Kruskal-Wallis Test).

Soil variables	Autumn		Winter		Spring		Summer	
	H	p	H	p	H	p	H	p
Water table level	18,2	***	23,4	***	18,2	***	15,02	***
pH	2,39	ns	2,39	ns	2,39	ns	2,39	ns
%H2O	5,1	ns	7,94	*	15,28	***	17,11	***
N-NH4	3,18	ns	10,89	**	4,1	ns	6,02	*
N-NO3	7,24	*	0,99	ns	9,81	**	0,47	ns
DNO	1,66	ns	0,98	ns	3,4	ns	1,87	ns
NITR	15,47	***	17,38	***	1,95	ns	17,61	***
NMIN	13,23	***	7,18	*	3,08	ns	10,2	**
DNT	2,51	ns	3,79	ns	0,2	ns	1,17	ns
ANA	6,62	*	16,55	***	10,57	**	1,4	ns
ANAc	8,42	*	17,22	***	5,19	ns	1,63	ns
ANAn	4,07	ns	8,59	*	0,95	ns	8,56	*
DEA	8,07	*	0,73	ns	1,29	ns	9,74	**

ns: non significant ($p > 0.05$); * significant at $0.01 \leq p \leq 0.05$; ** significant at $0.001 \leq p \leq 0.01$; *** significant at $p \leq 0.001$.

Factors limiting denitrification

The factors limiting denitrification were investigated. We tested the effects of various treatments, i.e. anaerobiosis, anaerobiosis + nitrate, anaerobiosis + carbon as glucose, anaerobiosis + carbon + nitrate, on the denitrifying activity of the bacterial communities sampled along soil profiles of the 3 zones of each site. DEA, which provides a potential rate of denitrification activity under non-limiting factors, can be used as an index of denitrifying population density. If absolute values are not very informative per se, the relative comparison of DEA rates within soil profiles, zones and sites allow us to identify areas where denitrifying populations are the most abundant. Moreover, comparison rates of DEA with other treatments, ANA, ANAn and ANAc reveal the denitrification-limiting factors.

DEA rates were significantly higher in the upper soil horizons, whatever the site, the zone or the season considered (Figure 4). DEA in the lower zones (I & II) were generally higher, although not always significant, than those measured in the upper zones. When comparing the annual average DNT and DEA by site, zone and profile, we found that DEA was always significantly higher than DNT in the upper soils horizons, whatever the site and the zone considered (Figure 5), but in the lower horizons, DEA was not significantly different from DNT.

Since it was in the upper soil horizons that we found the highest DNT and DEA rates, we then only investigated the seasonal pattern of the denitrification limiting factors in these upper horizons (sites pooled together) by comparing rates measured with different treatments, i.e. ANA, ANAc and ANAn against DEA ones (Figure 6). During the spring high water season, DEA is significantly lower than during the other seasons and denitrification rates are limited by anaerobiosis, except in the flooded lower part of the catena which is limited by the nitrate availability (Figure 6). In summer, when water table is low in the upper parts of the catena, DEA rates are still low and limited by anaerobiosis, while in the lower zone, DEA rates are significantly higher but cannot be triggered without the combination of anaerobiosis, nitrate and organic carbon. In autumn, denitrification is limited in the upper and the lower parts of the catena by anaerobiosis, while in the middle zone it requires the combination of all the factors. In winter , the importance of nitrate availability gradually increased from the top of the catena (zone III) to the lower part (zone I).

Despite the fact that the limiting factors of denitrification varied seasonally as shown above, we analysed the annual response of denitrification-limiting factors in each of the 3 zones by averaging the results obtained for the different modalities at the different seasons and in the different sites (Figure 7). Overall, DEA rates increased from the upper zone to the lower one, while the importance of anaerobiosis gradually disappeared, being replaced by the nitrate availability.

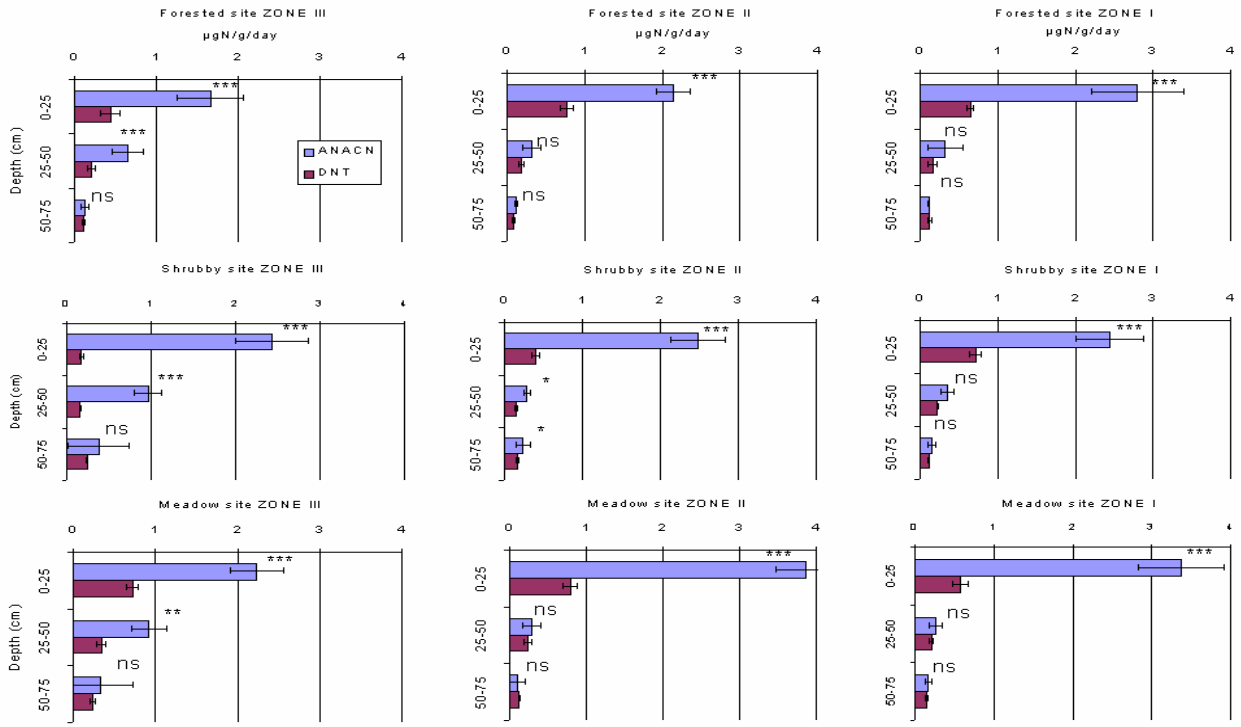


Figure 5. Comparison of annual average (with standard errors, n = 12) of *in situ* (DNT) and potential (DEA) denitrification rates in soil profiles along the 3 catenas (statistical differences between in situ and potential are given by asterisks: *** $p \leq 0.001$; ** $p \leq 0.01$; * $p \leq 0.05$; ns non significant).

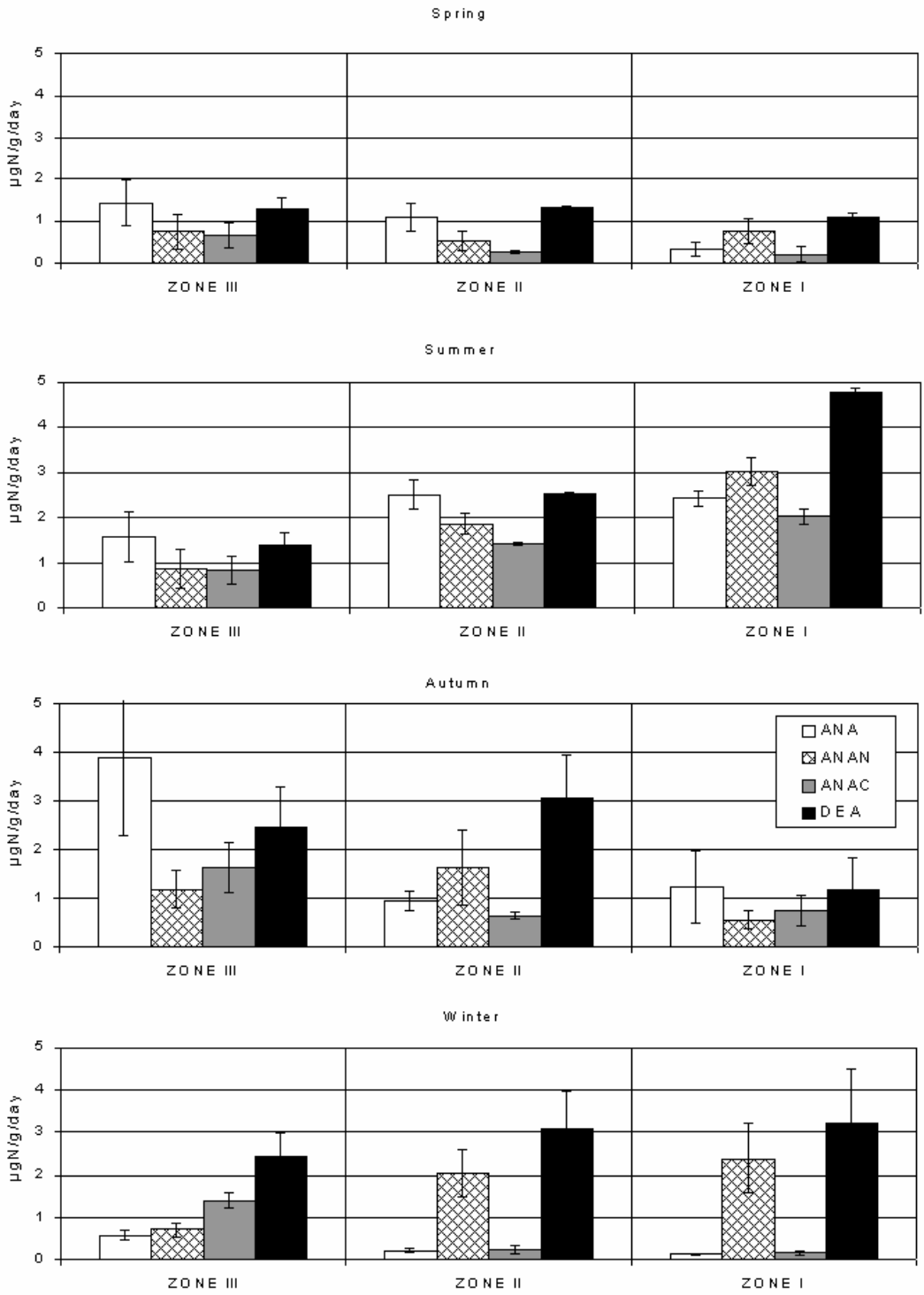


Figure 6. Seasonal variations of denitrification limiting factors in the upper horizon (0-25 cm) of the 3 catenas. Average values (with standard errors) for all sites (n = 9).

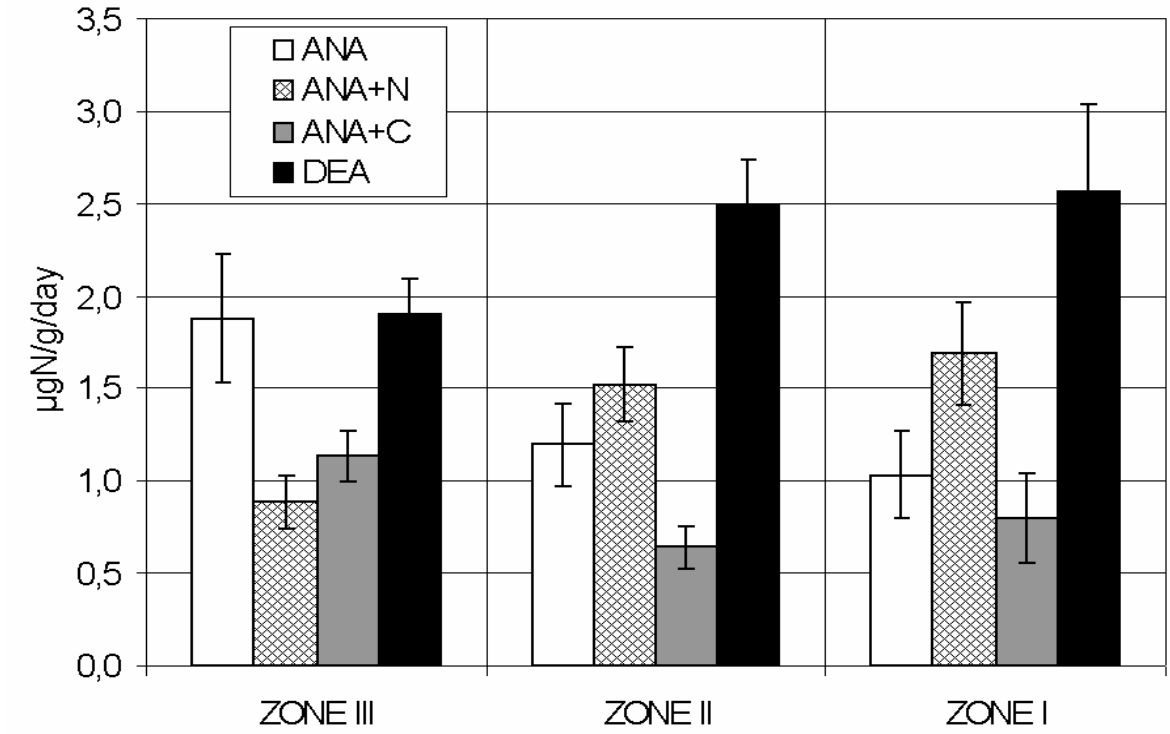


Figure 7. Denitrification limiting factors in the upper soil horizon (0-25 cm) of the catena. Seasons and sites have been pooled together (means and standard errors, n = 36).

DISCUSSION

Tri-dimensional structure of the catena

In each site we found a significantly higher *in situ* denitrification activity in the upper horizon (Figure 3 & Table 1) which corresponds to the rich organic layer. Here we call *in situ* denitrification the rates measured in the soil cores by the acetylene blocking method without any amendment (as opposed to the potential measurements made by incubation with different combination of anaerobiosis, nitrate and organic carbon supply). This strong vertical DNT gradient was maintained whatever the site or the zone. Moreover, we could not find any seasonal pattern in denitrification rates along the different catenas (Table 5). This implies that at the wetland scale, the soil profile imposes the strongest control on denitrification activity. In these wetland margins, even in the upper part of the catena, a high percentage of soil porosity, above 60%, is constantly filled with water, meeting the soil anaerobiosis requirements. Hence, control on denitrification activity is operated by the organic matter availability, which decreases significantly with depth (Table 2).

Even so, soil denitrifying activity was measured at all depths of the 3 riparian sites, whatever the season (Figure 3). In the next chapter we could demonstrate that the nitrate decline along these riparian flow paths was due to denitrification, using the change of the ^{15}N ratio of the remaining groundwater nitrate. However, we could not determine whether or not deep riparian soil layers were involved in that reduction. The results presented here reveal that there exists enough available organic carbon to sustain some significant denitrification up to 75 cm deep which contributes to the reduction of the groundwater nitrate load. In these deeper soil horizons, measured rates of DNT were of the same range as DEA, except in the 25-50 cm deep of the zone III, i.e. at the interface between the agricultural upland and the wetland (Figure 5). The combination of high subsurface nitrate input from the upland fields and the high frequency with which there is saturation in this intermediary horizon maintains a higher denitrifying bacteria community than expected from the general model in which high density should occur in the organic-rich horizons. It confirms that in deep soil profiles, despite the low denitrifying bacteria density, their activity can be sustained by allochtonous nitrate input. This implies that, at the upland-wetland interface scale, even though there is a strong vertical gradient, denitrification activity should be considered as a function of the entire soil profile/volume rather than as a surface related process (Hill et al. 2000).

Potential denitrification

We measured the denitrifying enzyme activity (DEA) which provides a tool to evaluate the pool of denitrifying bacteria by forcing their expression under non-limiting conditions but for a short period to avoid their multiplication. Hence, comparison of the results obtained allows us to determine the maximum denitrification capacity of a soil and provides an indirect evaluation of its denitrifying community. The steep vertical gradient measured for *in situ* denitrification was also found for DEA (Figure 4). This indicates that the upper soil horizon hosts the highest denitrifiers density, whatever the season or the site, although the upper part of the catena was rarely entirely flooded (Figure 2). Water movement by capillary rise to the upper soil horizons allows the maintenance of both aerobic and anaerobic environments in this organic horizon, a condition favourable for both nitrification and denitrification processes to occur (Groffman and Tiedje 1988). Indeed, the upper soil horizons have the highest concentrations of both ammonium and nitrate whatever the season (Table 3). The apparent low net mineralisation and nitrification (Table 3) in the lower zones

of the catena can be explained by the high denitrification which is not accounted for in the method used to evaluate these processes.

The potential denitrification activities in the upper horizons were always significantly higher than the measured DNT rates. This high potential denitrification at the boundary between aerobic and anaerobic conditions can lead to high emission of natural N_2O both during the nitrification process (Firestone and Davidson 1989) and incomplete nitrate reduction through denitrification (Kliewer and Gilliam 1995, Abbasi and Adams 2000). This aspect has clearly some management implications in terms of groundwater quality control and needs further research.

Denitrification limiting factors

Along the soil catena, the denitrifying bacteria pool of the upper soil horizon did not vary significantly (Table 5) on a seasonal basis. Despite large groundwater table variations (up to 1 metre, Figure 2), at least in the upper part of the catena, the soil moisture content of this upper horizon does not vary significantly either on a seasonal basis. It remained around 33% on a weight/volume basis because the precipitation regime. Hence, this moderate moisture content coupled with a high organic matter content, i.e. 6 to 20%, allowed the persistence of a high density of denitrifiers all the year. Even so, the denitrification limiting factors vary seasonally (Figure 6). This seasonal variation along the catena of the type of factors limiting denitrification underpins the fact that this upland-wetland interface fluctuates seasonally as a function of the groundwater table and most probably the allochtonous nitrate input from the upslope catchment. These two parameters, i.e. anaerobiosis *via* groundwater level fluctuation and nitrate supply, represent the main triggers of denitrification in an environment rich in organic matter.

On an annual basis, the denitrifier's density of the upper soil horizon, estimated as their potential activity (DEA), increased from the upper part of the catena to the lower part (Fig. 4). The potential denitrification rates were within the range of those measured in the south of France along a tributary of the Garonne (Pinay et al. 1993), on the Garonne alluvial soils (Pinay et al. 2000) and on poorly drained soils of riparian forests in the northern eastern part of the U.S.A. (Groffman et al. 1992). In the upper part of the catena, close to the upland area, the most important limiting factor of denitrification was the lack of anaerobic conditions. Indeed, whatever the site considered, soil incubation under anaerobiosis (ANA) provoked denitrification rates as high as under the incubation with the combination of anaerobiosis, nitrate and organic carbon (DEA). The high seasonal groundwater level variations hampered the maintenance of complete anaerobiosis conditions, at least from the surface to 50 cm deep, where DEA was significantly higher than *in situ* denitrification rates (Fig. 5). In the lower zones, the denitrification limiting factor gradually shifts from anaerobiosis to nitrate supply (Fig. 7). Due to its lower topographic position, the lower part of the catena is for most of the year under anaerobic conditions. Nitrification is often blocked at the ammonification stage under anaerobiosis, limiting *in situ* nitrate supply from organic matter mineralisation, except during the summer groundwater table drawdown. This lower part of the catena belongs to the so-called "potential buffer zone" (Haycock et al. 1993). Moreover, at this distance, i.e. 12 metres, groundwater nitrate supply is very limited since a large part of it has been already reduced upstream (Fig. 1).

Does the vegetation cover matter ?

In most of the cases, *in situ* denitrification rates in the forested, shrubby and wet meadow sites were not significantly different (Table 4). This result is in accordance with Addy et al. (1999) who did not find any significant difference of nitrate removal between forested and mowed riparian buffer zones subsoils in a mesocosm experiment. One explanation is that the adjacent location of the 3 types of vegetation cover could result in a similar composition and distribution of roots in the different sites. However, the sites were wide enough apart to overcome such a problem. Indeed, our sampling points were surrounded at each site by at least 20 metres of the same vegetation cover on both sides. Another reason could be that the highly variable responses of denitrification activity in soil cores, and the core incubation method used could also overwhelm inter-site differences due to plant and bacterial interaction.

The main reason for this absence of significant differences between land covers could be that they all provide enough organic carbon for the heterotrophic denitrifying bacteria. The constant decrease of groundwater nitrate concentration along the 3 different catenas supports this hypothesis. However, this does not mean that there could never be any shortage of available organic carbon under a higher carbon demand which could be generated by either a seasonal or a chronic increase of allochtonous nitrate from the upland catchment (Haycock and Pinay 1993). Nevertheless, this lack of significant difference between land covers underlines the importance of the topography of the stream valley rather than the vegetation cover, as a control of denitrification activity in a riparian wetland.

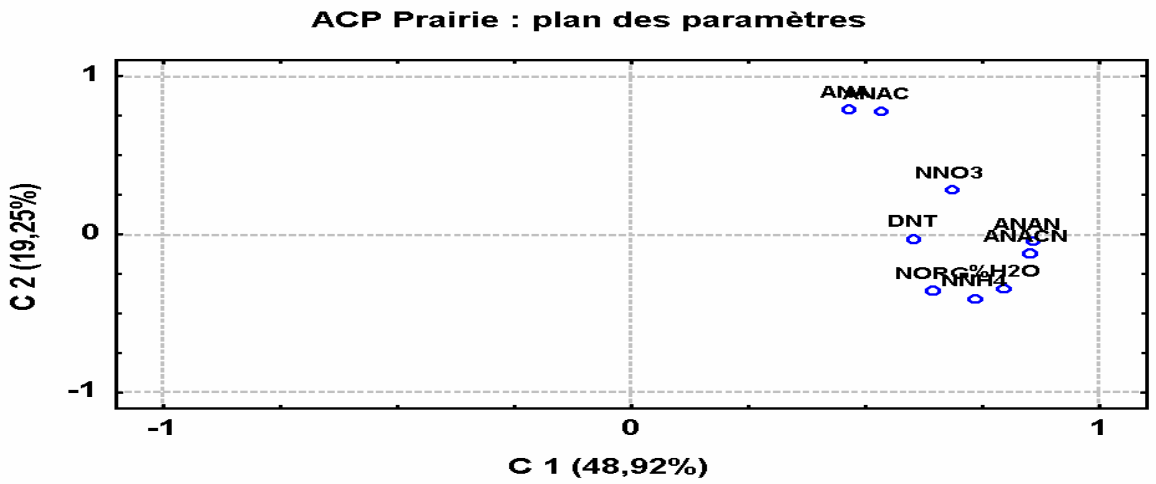
CONCLUSION

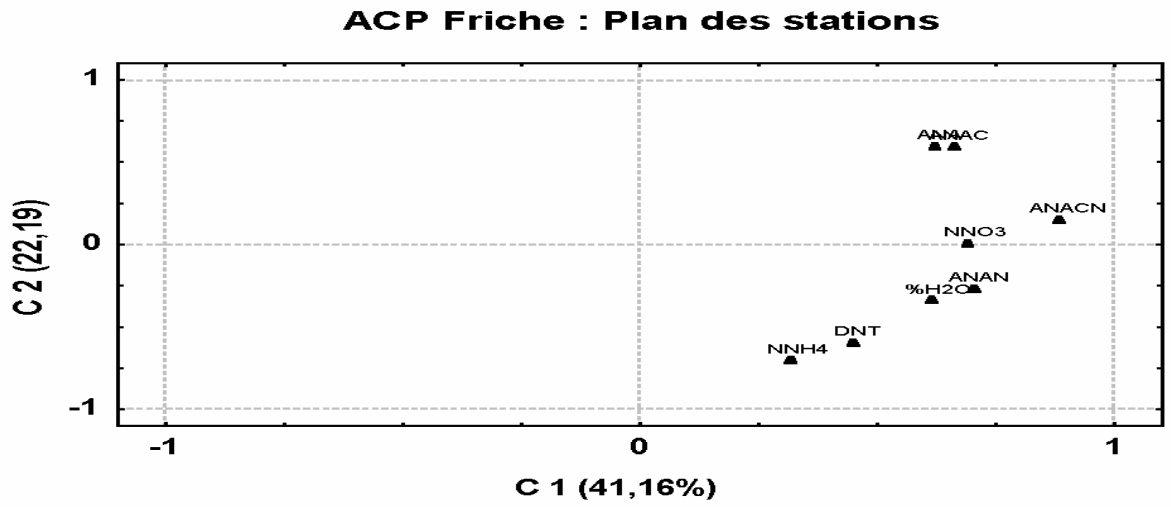
The strongly significant gradients of both *in situ* denitrification rates and denitrifiers density (DEA) confirm that the upper soil horizon of the riparian zone is the most active. Even so, this does not imply that it represents the only effective horizon to reduce subsurface allochtonous nitrate input. Indeed, during the low-water period the groundwater level is far below the soil surface, and in turn inaccessible to denitrifiers of the upper horizon. Hence, the observed disappearance of groundwater nitrate is then due to denitrification in the deeper soil layers, this being confirmed by the measurement of significant *in situ* denitrification rates up to 75 cm deep. It implies that there exists enough carbon availability for the denitrifying bacteria, at least up to 75 cm deep in these study sites, and whatever the land cover of the wetland, i.e. forest, shrub or meadow. The vegetation covers tested did not exhibit any significant difference at the spatial and temporal scales analysed. In fact, the most important factors were lateral zonation from the upland border to the riparian zone and the vertical gradient down the soil profile. This underlines that, at the riparian zone scale, the geometry of the active nitrate buffer zone has to be related to a volume which varies within the active aquifer volume according to the groundwater table level. In terms of management this implies that the perennial vegetation covers tested, hardwood, shrub and meadow, all provide enough organic carbon to sustain a high density of heterotrophic denitrifying bacteria.

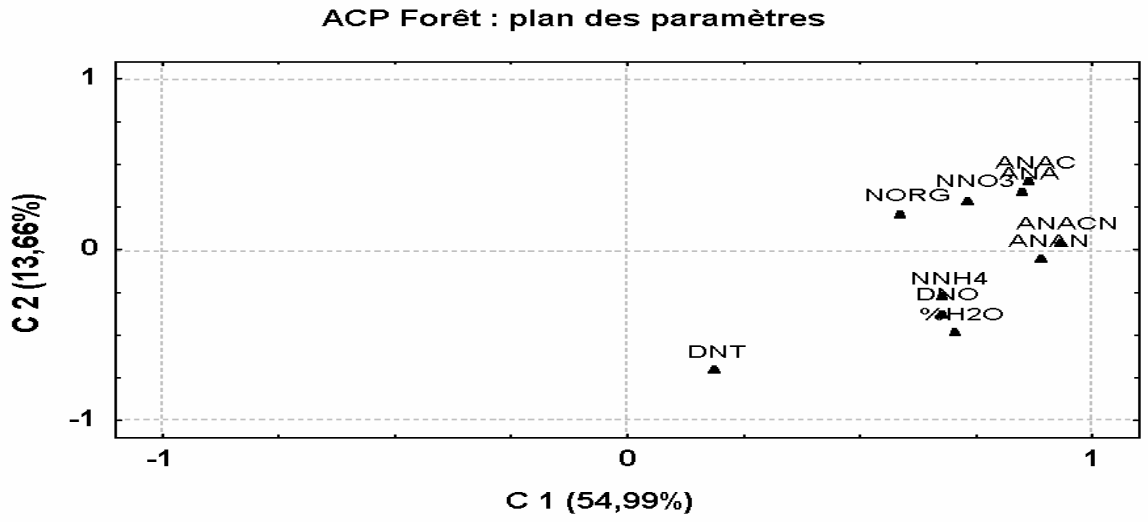
ACKNOWLEDGEMENT

This study is part of a European project called NICOLAS: Nitrogen Control by Landscape Structures in Agricultural Environments, which was supported by a grant from the Environment & Climate Directorate of the European Union, n° ENV4-CT97-0395.

Appendix 1 : PCA Analyses performed on each station separately, Meadow, Shrub, and Forest.


ACP Prairie : plan des paramètres
C 2 (19,25%)
C 1 (48,92%)
1
0
-1
-1
0
1
ANAC
NNO3
DNT
ANAN
ANACN
NORG
%H2O
NNH4


ACP Friche : Plan des stations
C 2 (22,19)
C 1 (41,16%)
1
0
-1
-1
0
1
ANAC
ANACN
NNO3
ANAN
%H2O
DNT
NNH4


ACP Forêt : plan des paramètres
C 2 (13,66%)
C 1 (54,99%)
1
0
-1
-1
0
1
ANAC
ANA
NNO3
NORG
ANACN
ANAN
NNH4
DNO
%H2O
DNT

SYNTHESE

L'analyse de la dénitrification *in situ* étudiée témoigne que l'horizon de surface (0-25 cm) est le plus actif pour l'ensemble des 3 zones riveraines (Figure 3, Tableau 1). De plus, la mise en conditions optimales des échantillons de sol (DEA) confirme que cet horizon possède la plus forte densité de bactéries dénitrifiantes (Figure 4). On observe cependant une diminution des activités dénitrifiantes *in situ* et potentielle le long des profils de sols. Ce gradient est visible tout au long de l'année sans effet apparent ni de la saison, ni du type de végétation ou de la zone considéré. Il semble donc que ce soit la répartition des variables du sol le long des profils pédologiques qui contrôle de façon prépondérante l'activité dénitrifiante à l'échelle de la zone humide. En effet, de nombreux paramètres testés lors de cette étude, sont répartis selon le même gradient. Hormis ceux présentés dans le chapitre précédent (Tableau 1), d'autres variables permettent aussi de différencier clairement les différents horizons (Tableau 6).

Tableau 6: Différences entre les 3 horizons pour chaque variable du sol dans chaque site, les 3 zones et les 4 saisons sont regroupées. Anova non paramétrique (Test de Kruskal-Wallis).

Sites	% MO		pH		% sable		% C		% N		C/N		N bactérien	
	H	p	H	p	H	p	H	p	H	p	H	p	H	p
Meadow	85.83	***	28.75	***	25.31	***	47.65	***	84.06	***	84.06	***	22.25	***
Shrub	84.93	***	63.40	***	4.74	ns	29.80	***	94.74	***	94.74	***	25.39	***
Forest	85.83	***	57.58	***	27.53	**	79.73	***	89.72	***	84.11	***	36.01	***

ns: non significatif ($p \geq 0.05$)
* significatif à $0.01 \leq p \leq 0.05$
** significatif à $0.001 \leq p \leq 0.01$
*** significatif à $p \leq 0.001$

Comme la majorité des paramètres mesurés, l'ensemble des teneurs en carbone obtenues par CHN auto-analyser montre en effet une très forte corrélation inverse avec la profondeur de prélèvement le long des profils de sol ($p \leq 0.001$) (Figure 8).

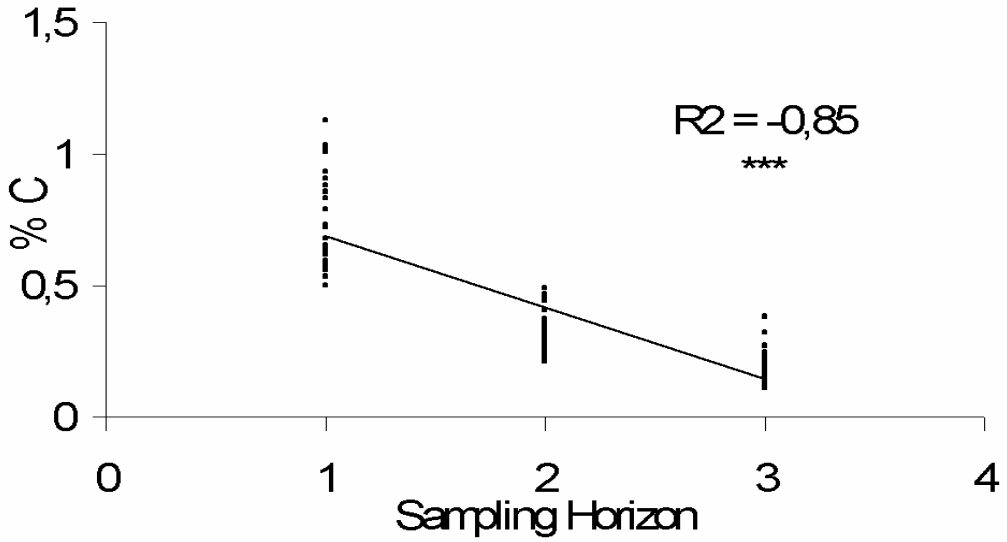


Figure 8: Corrélation entre les teneurs en carbone et les horizons de prélèvements: 1 = 0-25 cm, 2 = 25-50 cm, 3 = 50-75 cm. Teneurs en carbone transformées en log (X+1). $P \leq 0.001$ (n = 324).

De plus, la dénitrification *in situ* (DNT) et potentielle (DEA) sont corrélées de façon très significative ($p \leq 0.001$) avec l'ensemble des paramètres mesurés lorsque tous les sites, toutes les saisons, toutes les zones et profondeurs sont regroupées (Tableau 7).

Tableau 7: Corrélations des différents paramètres avec la dénitrification *in situ* (DNT) et potentielle (DEA). Toutes les profondeurs, toutes les saisons, toutes les zones et tous les sites sont regroupés (n=324). Valeurs transformées en log (X+1):

(n=324)	DEA (ANACN)		DNT	
	p	R²	p	R²
DNT	***	0.37		
ANA	***	0.53	ns	0.09
ANAN	***	0.78	***	0.39
ANAC	***	0.60	ns	0.09
ANACN			***	0.37
%OM	***	0.70	***	0.40
Humidité %	***	0.61	***	0.35
pH	***	-0.52	***	-0.30
% sable (>2mm)	***	0.26	***	0.18
C %	***	0.71	***	0.44
N %	***	0.68	***	0.42
C/N	***	0.46	***	0.38
NO3	***	0.51	**	0.25
NH4	***	0.47	***	0.22

Si l'on observe les mêmes corrélations horizon par horizon, il apparaît que pour l'horizon de surface (0-25 cm) la dénitrification *in situ* est fortement influencée par le C:N du sol, alors que le DEA est plutôt relié au niveau de saturation et aux teneurs en nitrate et ammoniaque (Tableau 8).

Tableau 8: Corrélations des différents paramètres avec la dénitrification *in situ* (DNT) et potentielle (DEA) pour l'horizon 0-25 cm. Valeurs transformées en log (X+1). Les sites, saisons et zones sont regroupés (n=108).

0-25 cm (n=108)	DEA (ANACN)		DNT	
	p	R²	p	R²
DNT	ns	0.16		
ANA	*	0.23	*	-0.24
ANAN	***	0.57	*	-0.24
ANAC	**	0.31	*	0.24
ANACN			ns	0.19
%OM	ns	0.11	ns	0.20
Humidité %	***	0.28	ns	0.14
pH	ns	-0.02	ns	-0.12
% sable (>2mm)	ns	0.02	ns	0.17
C %	ns	0.07	**	0.28
N %	ns	0.09	*	0.21
C/N	ns	-0.04	***	0.38
NO3	**	0.29	ns	-0.05
NH4	*	0.21	ns	0.10
NITnette			ns	-0.16
Ammonif			ns	-0.11

Tableau 9: Corrélations des différents paramètres avec la dénitrification *in situ* (DNT) et potentielle (DEA) pour l'horizon 25-50 cm. Valeurs transformées en log (X+1). Les sites, saisons et zones sont regroupés (n=108).

25-50 cm (n=108)	DEA (ANACN)		DNT	
	p	R²	p	R²
DNT	ns	0.01		
ANA	***	0.48	ns	0.005
ANAN	***	0.37	ns	-0.07
ANAC	***	0.66	ns	-0.03
ANACN			ns	-0.01
%OM	ns	0.06	ns	-0.04
Humidité %	ns	0.15	ns	0.03
pH	**	-0.27	ns	-0.04
% sable (>2mm)	**	0.31	ns	0.05
C %	*	0.21	ns	0.05
N %	*	0.20	ns	0.05
C/N	ns	0.05	ns	0.05
NO3	***	0.37	*	0.22
NH4	*	0.23	ns	-0.11
Nbact	*	0.27		

En ce qui concerne l'horizon intermédiaire (25-50 cm), la dénitrification *in situ* n'est plus influencée significativement que par la teneur en nitrate, alors que la DEA est en plus fortement dépendante du pH et de la granulométrie (Tableau 9).
Enfin, pour l'horizon profond (50-75 cm), la dénitrification *in situ* ne semble plus reliée à aucun paramètre mesuré, alors que la DEA est clairement sous l'influence des teneurs en matières organique et azote (Tableau 10).

Tableau 10: Corrélations des différents paramètres avec la dénitrification *in situ* (DNT) et potentielle (DEA) pour l'horizon 50-75 cm. Valeurs transformées en log (X+1). Les sites, saisons et zones sont regroupés (n=108).

50-75 cm (n=108)	DEA (ANACN)		DNT	
	p	R²	p	R²
DNT	ns	-0.05		
ANA	*	0.24	ns	0.11
ANAN	***	0.50	ns	0.01
ANAC	ns	0.10	ns	-0.06
ANACN			ns	-0.04
%OM	*	0.21	ns	-0.08
Humidité %	ns	-0.04	ns	0.16
pH	ns	-0.13	ns	0.07
% sable (>2mm)	ns	-0.03	ns	-0.07
C %	ns	0.18	ns	-0.15
N %	*	0.20	ns	-0.13
C/N	ns	-0.1	ns	-0.07
NO3	ns	0.06	ns	-0.08
NH4	ns	-0.06	ns	-0.03
Nbact	*	0.27		

En termes de fonctionnement, cela laisse à penser que l'activité dénitrifiante en profondeur est relativement indépendante de la variation des facteurs physico-chimiques, et qu'elle doit être influencée à une échelle de temps supérieure de celle que nous avons appréhendée.

Au contraire, l'activité dénitrifiante de l'horizon de surface est nettement plus influencée par les variations saisonnières des facteurs limitant, principalement l'anaérobiose et la fourniture en nitrates qui semblent suivre le gradient d'hydromorphie défini par les 3 zones d'échantillonnage (Figure 6). L'anaérobiose est d'autant plus limitante que la zone considérée est proche du talus de ceinture, alors que la fourniture en nitrate devient de plus en plus limitante au fur et à mesure que l'on se rapproche du cours d'eau. Enfin, les activités dénitrifiantes sont significatives à toutes les profondeurs et dans tous les sites quelque soit la saison (Figure 3). La capacité de rétention de rétention des pollutions azotées diffuses par ce processus est donc présente toute l'année. De plus, le potentiel de dénitrification (DEA) mesuré dans les horizons profonds révèle que l'activité dénitrifiante, bien que faible par rapport à l'horizon de surface, est toujours à son maximum. **Au final, la capacité tampon de la dénitrification au niveau de la zone humide doit être considéré comme étant plutôt dépendante du volume de contact entre le sol et la nappe, et non pas comme un processus relié à la surface de zone humide.**

En résumé, la zone 3 correspondant à l'interface terres agricoles-zone humide est de première importance pour la rétention des pollutions azotées diffuses, il s'agit en effet de la zone active où la dénitrification élimine efficacement les nitrates de la nappe grâce entre autre à un volume de sol actif potentiellement plus important (Figure 5). La zone 1 peut être rapportée à la zone potentielle qui pourrait dénitrifier efficacement les nitrates de la nappe si ceux-ci devaient l'atteindre. **En termes de gestion des zones humides dans une optique de protection de la qualité des eaux de surface, il apparaît clairement ici que la longueur d'interface ou de contact entre un bassin versant agricole et une zone humide est nettement plus importante que sa surface totale.**

Les différents types de couvertures végétales ne semblent pas entraîner de variations significatives des activités dénitrifiantes (cf. Tableau 4), du moins aux échelles de temps et d'espace utilisées lors de cette étude. L'explication se trouve sans doute dans le fait que ces trois types de végétation représentent une source suffisante de carbone organique pour les bactéries dénitrifiantes de chaque site. En fait, les 3 sites d'étude se trouvent tous sur le même versant et sont géographiquement très proches les uns des autres. Les caractéristiques du sol des différents sites sont donc très similaires, de même que leurs topographies et les niveaux d'entrée en nutriments *via* la nappe de versant**. Il semble donc que ces caractéristiques communes liées à la géomorphologie globale du fond de vallée soient plus pertinentes dans une même région pour prédire une éventuelle capacité tampon de la zone humide que le type de couverture végétale.**

Afin d'évaluer la dépendance existante entre les variables mesurées et les taux de dénitrification *in situ* (DNT) et potentielle (DEA ou ANA+C+N), quelques régressions multiples pas à pas (incrémentielle ascendante) ont été effectuée sous Statistica 2000. En résumé, il s'agit de tester le pouvoir d'explication de toutes les variables brute (%OM, Humidité, pH, %C, %N, C/N, $NO3_{sol}$, $NH4_{sol}$, %sable, Biomasse bactérienne, Ammonification et Nitrification) sur les mesures de DNT et de DEA. La régression multiple pas à pas permet ainsi de conserver parmis plusieurs variables uniquement celles qui ont un pouvoir explicatif significatif.

Si l'on considère tout l'ensemble des données, c'est à dire tous les sites, toutes les zones, toutes les profondeurs et toutes les saisons regroupés (n = 324), on obtient:

- Pour DNT: %C = 16 %
  + C/N = 17 %
  + Humidité = 18 %
  + $NO3_{sol}$ = 18.5 %
  + %N = 19 %

- Pour DEA: Humidité = 35 %
  + $NO3_{sol}$ = 42 %
  + %N = 47 %
  + pH = 48 %
  + %C = 49 %

Pour l'horizon 0-25 cm, tous les sites, toutes les saisons et toutes les zones confondus (n = 108):

- Pour DNT: C/N = 12 %
  + Humidité = 14 %

- Pour DEA: Humidité = 14 %
  + $NO3_{sol}$ = 21 %
  + %OM = 22 %

Pour la zone I, Horizon 0-25 cm, tous les sites et toutes les saisons regroupés (n = 36):

- Pour DNT: pH = 16 %
  + $NH4_{sol}$ = 19 %

- Pour DEA: Humidité = 25 %
  + $NO3_{sol}$ = 34 %
  + pH = 38 %

Pour la zone II, Horizon 0-25 cm, tous les sites et toutes les saisons regroupés (n = 36):

- Pour DNT: C/N = 16 %
  + pH = 22 %

- Pour DEA: Nitrification = 31 %
  + $NH4_{sol}$ = 35.5 %
  + $NO3_{sol}$ = 38 %

Pour la zone III, Horizon 0-25 cm, tous les sites et toutes les saisons regroupés (n = 36):

- Pour DNT: Ammonification = 19 %
  + C/N = 26 %
  + %C = 32 %

- Pour DEA: + $NO3_{sol}$ = 13 %
  + Ammonification = 19 %
  + %C = 24 %

Globalement, on retrouve les facteurs limitant de la dénitrification, i.e. Nitrates, Carbone et Humidité. Le pH semble être une variable explicative qui revient souvent, elle traduit peut être la sensibilité de la dénitrification au degré d'acidité du sol. La nitrification comme variable explicative peut traduire la dépendance de la dénitrification pour la fourniture en nitrate assurée par la nitrification. Enfin, l'ammonification peut être analysée comme une variable qui intègre la présence de carbone tout comme la dénitrification. Les autres horizons sont en cours d'analyse mais au vue des premiers résultats il semble que globalement le

pouvoir explicatif des variables soit de moins en moins significatif. De plus, d'autres variables apparaissent telles que la biomasse bactérienne et la granulométrie.

Un objectif important du programme de recherche N.I.C.O.L.A.S., et de la recherche sur le cycle de l'azote dans les zones humides en général, est de déterminer si la rétention de l'azote qui a lieu le long des transects est le fait de la dénitrification ou de l'assimilation végétale. Cette distinction est importante puisque la dénitrification représente une réelle perte d'azote pour l'écosystème riverain, alors que l'assimilation végétale n'est qu'un stockage temporaire. Pour diverses raisons, la différenciation de la rétention de l'azote due à chacun de ces processus reste un exercice difficile. Par exemple, les taux de dénitrification mesurés sont à appréhender avec précaution car les méthodes de mesures perturbent énormément la structure du sol, l'hydrologie et bien d'autres facteurs encore. De la même façon, la détermination de l'azote assimilé par la végétation utilise des estimations de biomasse et de productivité primaire qui sont, tous les deux, sujets à de nombreuses erreurs. Ainsi, la détermination de la part respective de ces deux processus dans la rétention de l'azote nécessite une approche basée sur des moyens d'étude plus objectifs. **C'est dans cet optique que nous avons testé si l'abondance isotopique naturelle de l'azote 15 (ou ^{15}N) pouvait être une solution intéressante**. En effet, l'assimilation végétale et la dénitrification présentent un comportement différent vis à vis de l'azote 15 présent naturellement dans l'eau qui s'écoule dans les zones riveraines. La dénitrification a tendance à fractionner, c'est à dire à utiliser de façon préférentielle l'azote 14 et à laisser de côté l'azote 15, alors que la végétation assimile les deux isotopes sans faire de distinction. Donc, si la réduction de l'azote observé le long d'un transect est le fait de la dénitrification, l'azote résiduel présent dans l'eau aura tendance à s'enrichir en ^{15}N. Au contraire, si c'est la végétation seule qui est responsable de la diminution des concentrations, alors le taux de ^{15}N dans l'eau restera constant. **En utilisant cet outil nous avons mesurés les variations inter-saisons et inter-sites des abondances naturelles de l'azote 15 des nitrates de la nappe et de l'azote de la végétation présents le long des transects de nos sites d'étude. Après avoir démontré que la dénitrification à bien lieu et qu'elle est à l'origine d'une bonne part de la réduction des concentrations en nitrate, nous avons donc tenté d'approfondir les relations existant entre la rétention de l'azote, les fluctuations de la nappe, l'assimilation végétale et la distribution spatiale de la dénitrification**.

Running head:
^{15}N natural abundance in groundwater nitrate and plant tissues along riparian transects.

CHAPITRE III

Isotopic Investigation of Denitrification in a Riparian Ecosystem in Northwest France

(Submitted the 19 January 2000 to Journal of North American Benthological Society)

Jean-Christophe Clement[1], Robert M. Holmes[2], Bruce J. Peterson[2], Gilles Pinay[1]

[1]U.M.R. 6553 – ECOBIO, Université de Rennes I, Avenue du Général Leclerc,
F-35242 RENNES cedex, FRANCE
[2]The Ecosystems Center, Marine Biological Laboratory,
WOODS HOLE, MA 02543, USA.

ABSTRACT

Nitrate decline along riparian flowpaths is most often attributed to denitrification, but its spatial and temporal distribution and rates are notoriously difficult to establish. By measuring the natural abundance distribution of nitrogen isotopes in both the groundwater nitrate and the riparian plant tissues, we attempted to determine to what extent the groundwater nitrate decline (from ~ 15 to < 1 mg N/L) observed in 2 riparian sites with contrasting vegetation resulted from denitrification and/or plant uptake. Previous classical measurements of "ambient" denitrification have shown that denitrification was much more active in near surface soils than in deeper horizons, but have often not conclusively demonstrated that nitrate retention was actually due to denitrification, especially when the water table was low. However, we observed a significant increase of $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ (from +5 to +28 ‰) as nitrate concentrations declined, which demonstrated that denitrification was predominantly responsible for the nitrate retention, even when the water table was low. This isotopic approach also provided evidence of seasonal variations in the occurrence of denitrification, and helped to spatially delimit the area where denitrification was most active. $\delta^{15}N$ of overlying vegetation along the riparian transects were higher (from +1.7 to +14.2 ‰) than the typical range for terrestrial plants, and was related to the isotopic composition of nitrate in underlying groundwater when the water table was shallow. Thus, in this case, both plant uptake and denitrification contributed to the observed nitrate decline. However, given that the roots were limited to the upper 50 cm of soil, direct uptake of groundwater nitrate by riparian vegetation was only important when the water table was relatively shallow. Finally, given the wide range of nitrogen isotopic compositions we observed in riparian vegetation and their relationship to groundwater $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ and denitrification, measurement of $\delta^{15}N$ in plants may be a simply and powerful means of detecting real buffer zones where denitrification is processing allochtonous nitrate in riparian ecosystems and their surrounding catchments.

Key words: ^{15}N natural abundance, denitrification, plant uptake, nitrate, riparian zone.

INTRODUCTION

Anthropogenic nitrogen fixation now exceeds natural nitrogen inputs to the biosphere (Vitousek 1994, Galloway et al. 1995). Much of this anthropogenically-fixed nitrogen is used for fertilizer, some of which is not assimilated by growing crops but instead leaches into groundwater. N-enriched groundwater eventually discharges into streams and contributes to the eutrophication of downstream lakes, estuaries, and the coastal ocean (Vitousek et al. 1997). Numerous studies have demonstrated that groundwater nitrate concentrations may decrease substantially as water moves through riparian ecosystems before being discharged into streams (Lowrance et al. 1984, Peterjohn and Correll 1984, Pinay and Décamps 1988, Cooper 1990, Fustec et al. 1991, Groffman et al. 1992, Simmons et al. 1992, Haycock and Burt 1993, Jordan et al. 1993, Pinay et al. 1993, Lowrance et al. 1995, Hill 1996, Hedin et al. 1998). As a result, there is considerable interest in exploiting the nitrogen "filtration" capacity of riparian ecosystems in order to improve surface water quality. Yet, there is still much uncertainty about the mechanisms and controls of nitrogen retention in riparian ecosystems, thus hindering their effective management.

Nitrate decline along riparian flowpaths is most often attributed to denitrification (the reduction of NO_3 to N_2O and N_2) and/or to plant uptake and microbial immobilization. Nevertheless, denitrification is notoriously difficult to quantify, and even detection of its occurrence can be challenging (Cooper 1990, Groffman et al. 1992, Lowrance 1992, Simmons et al. 1992, Nelson et al. 1995, Verchot et al. 1997). The commonly used microcosm-scale measurements of denitrification are difficult to interpret, because chamber effects may result in estimates that differ substantially from those occurring in the field (Groffman et al. 1992, Lowrance 1992, Groffman et al. 1996, Holmes et al. 1996, Gold et al. 1998). More elaborate mesocosm measurements may come closer to mimicking field conditions (Gold et al. 1998, Jacinthe et al. 1998, Addy et al. 1999). Nonetheless, riparian sediment samples are still isolated from real hydrologic exchange and other field conditions such as water table seasonal fluctuations, live plants uptake, and carbon exudates from roots. Given these factors, the lateral and vertical distribution of denitrification along riparian flowpaths, and its quantitative significance for nitrate decline compared to other processes, is difficult to assess by using these methods alone. Even though denitrification activity in surface soil horizons is typically higher than in the deeper horizons (Haycock and Pinay 1993), it remains tenuous to conclude that groundwater nitrate is solely removed by denitrification, especially when the water table is low and far from the most active upper horizon.

Often the relative importance of different biological processes to groundwater nitrate removal within a riparian approach is a necessary and powerful first wetland is estimated from mass balance calculations. Although this evaluation, it is also subject to considerable error. Furthermore, it gives poor indications about relationships between temporal and spatial distribution of denitrification activity, plant uptake and water table fluctuations along the riparian flowpaths. Finally, riparian zones are often hydrologically complex, with numerous ground waters converging in the near-stream environment (Hill 1990, Mulholland 1992, 1993, Fisher et al. 1998). This makes identification of discrete flowpaths even more difficult and complicates mass-balance approaches, because mixing of nitrate-enriched shallow groundwater with low-nitrate, deeper groundwater results in nitrate concentration decline without nitrate retention (Altman and Parizek 1995, Pinay et al. 1998).

Natural abundance nitrogen isotope ratios (expressed by convention as $\delta^{15}N$) provide insights to the nitrate removal processes occurring in groundwater (Mariotti et al. 1988, Böttcher et al. 1990, Smith et al. 1991, Page 1995, McMahon and Bohlke 1996, Blicher-Mathiesen et al. 1998, Mengis et al. 1999). There are 2 stable isotopes of nitrogen, ^{14}N and ^{15}N. The most common, ^{14}N, accounts for approximately 99.63 % of all dinitrogen atoms in air. Although the nitrogen isotopic composition of the standard (atmospheric dinitrogen) is constant, other materials have variable isotopic compositions because some processes discriminate (i.e.

fractionate) between nitrogen isotopes. One process that discriminates between nitrogen isotopes is denitrification, since denitrifying bacteria use the lighter isotope (^{14}N) more readily than the heavier isotope (^{15}N) (Mariotti et al. 1981, Bölke and Denver 1995, Mengis et al. 1999), resulting in the progressive enrichment of remaining NO_3 pool with respect to the heavier isotope (Fig. 1). In contrast to denitrification, nitrate uptake by terrestrial vegetation appears to fractionate minimally or not at all (Mariotti et al. 1982). Previous studies have used natural abundance $\delta^{15}N$ techniques to assess denitrification in groundwater systems, but the method has yet to be used in riparian zones with the intent of distinguishing among various processes (chiefly denitrification and plant uptake) responsible for reduced nitrate concentrations. If plant uptake alone is responsible for nitrate retention along a riparian flowpath, the isotopic composition of the remaining nitrate would remain essentially unchanged (Fig. 1). If both denitrification and plant uptake are contributing to nitrate retention along riparian flowpaths, the isotopic composition of the residual nitrate would become progressively enriched and the overlying vegetation would reflect the isotopic composition of their nitrogen source. Alternatively, if denitrification were the only process involved the isotopic composition of the residual nitrate would become progressively enriched while plant isotopic composition would remain unchanged. Hence, this approach is useful for determining whether groundwater nitrate retention along subsurface flowpaths in riparian wetlands is due to denitrification and/or plant uptake.

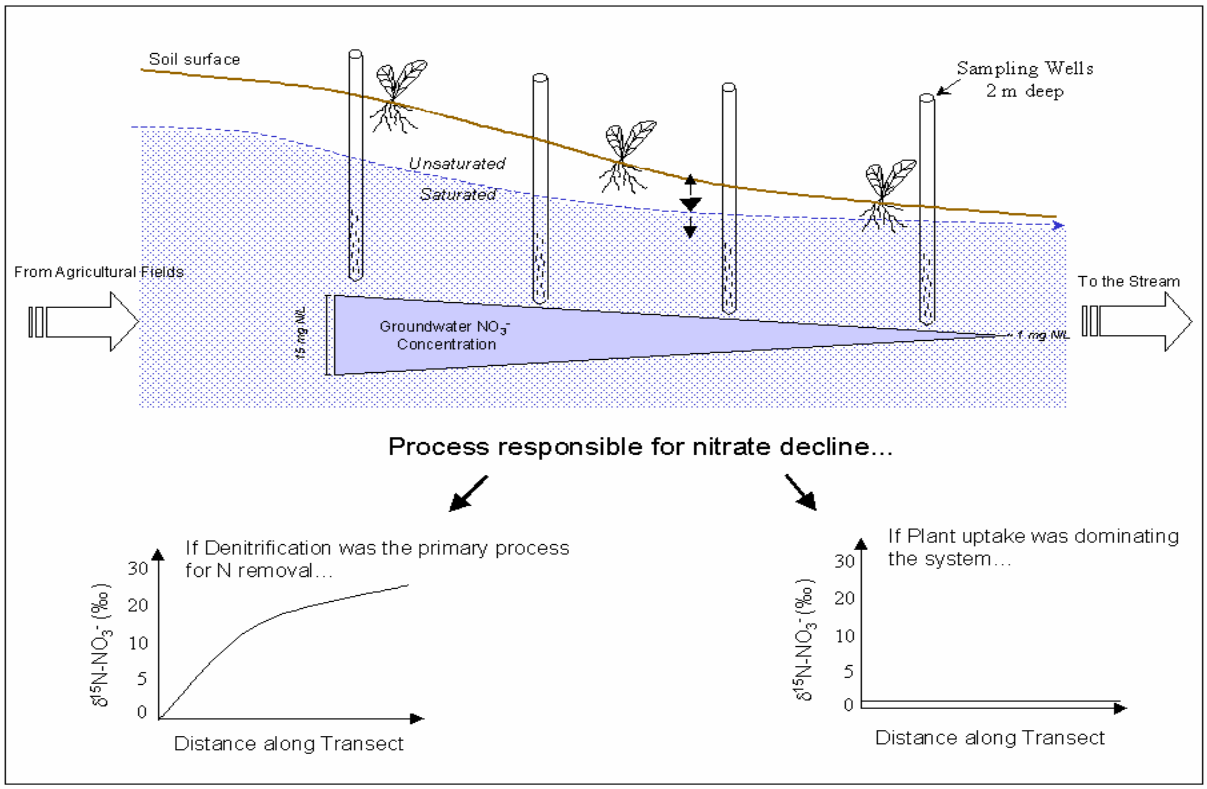


Fig. 1. Conceptual diagram illustrating how the natural abundance of $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ can be used to assess the relative importance of denitrification and plant uptake as nitrate retention mechanisms along riparian flowpaths.

The goals of this research on nitrogen cycling in a riparian ecosystem in northwest France were: i) to demonstrate whether denitrification occurs and influences groundwater nitrate concentration, ii) to investigate the relationships between groundwater nitrate retention, water table fluctuations, plant uptake, and the spatial distribution of denitrification, and iii) to study the inter-seasonal and inter-riparian sites variations of ^{15}N natural abundances in

groundwater nitrate and vegetation. We selected 2 riparian zones differing by their vegetation cover, i.e. a Grassland riparian site and a Shrub riparian site. The sites were equipped with a grid network of piezometers to characterize the hydrology of the riparian sites and measure groundwater nitrate concentrations and isotopic ratios along the groundwater flowpaths. We also evaluated the "ambient" denitrification activity by the mesocosm method and measured ^{15}N natural abundance in vegetation at sites adjacent to the groundwater wells.

METHODS

Study Site

The study was conducted in a riparian ecosystem along a 4th order stream (Petit Hermitage Creek) in northwest France (48.3°N, 1.3°W). The region has a mild oceanic climate and the landscape is predominantly agricultural, with corn and wheat being the primary crops. Fertilizer application rates are high, about 200 kg N ha^{-1} y^{-1}, which has resulted in groundwater nitrate concentrations ranging from 10 to 20 mg N/L. The upland-riparian boundary in both zones is characterized by a steep 2-3 m drop in elevation from surrounding fields into the riparian ecosystem. The whole riparian zone was about 80 m wide from the upland-riparian interface to the stream. A hydrological relict channel, roughly parallel to the stream and 30 m from the hill slope, flowed in high water period (Fig. 2).

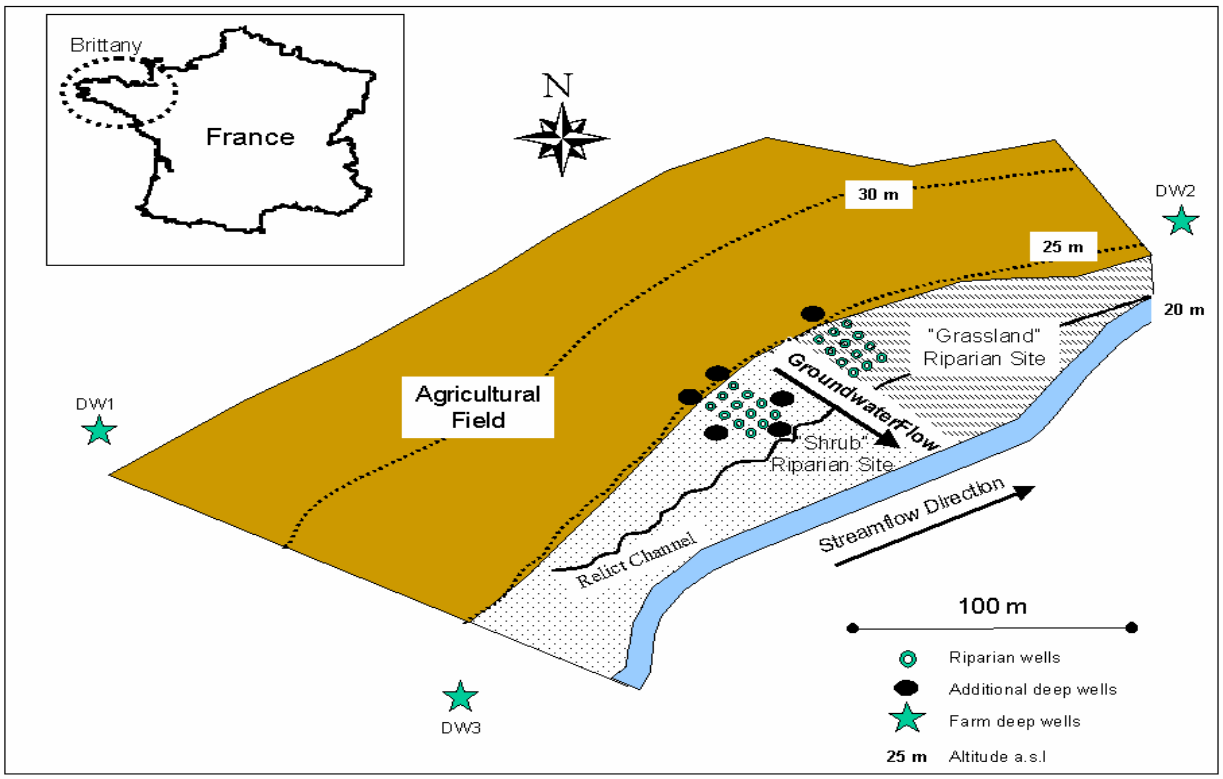


Fig. 2. Map of the study site in Brittany (Bretagne) northwest France. Topographical lines (----) represent land surface in meters above sea level as indicated in boxes. Riparian wells transects of 9 m length were established in both "Shrub" and "Grassland" sites. The bank of the stream is 20 m above the sea level.

Two distinct zones are present along the ~300 m length of the study site (Fig. 2). The most upstream zone ("Shrub riparian site ") is characterized by abundant shrubs but no mature trees. The primary species in this zone are young willows (*Salix sp.*) with herbaceous cover of grasses such as *Phalaris arundinacea*, *Agrostis stolonifera*, *Gallium aparine*, *Symphitum officinale*, *Holcus lanatus*, *Glyceria fluitans*, *Urtica dioica*, *Ranunculus repens*, and *Gallium palustre*. The downstream zone was cleared long ago of all trees and is now a "Grassland riparian site" mainly characterized by *Juncus effusus*, *Polygonum amphibium*, *Urtica dioica*, *Glyceria fluitans*, *Lolium multiflorum*, *Holcus lanatus*, *Agrostis stolonifera*, and *Ranunculus repens*. Based on field observations, the root zone was limited to the upper 50 cm in both sites.

Twelve wells were installed in each of the 2 types of riparian zones. Well transects were arranged perpendicular to the stream channel and parallel to groundwater flowpaths. Within each zone, wells were arranged in 3 transects of 4 wells each, from the upland-riparian interface toward the stream. Well transects were spaced about 10 m apart with an average distance of 3 m between wells. Wells were constructed from 2.5 cm-diameter PVC pipe, inserted to depths ~ 2m below the ground surface, with the lower 50 cm of each well perforated to allow water to be collected from a larger vertical horizon.

Soil profiles in the riparian zone consisted of an organic upper horizon (0-25 cm), a clay-silt horizon with ferrous oxidation spots (25-75 cm) and a fine clay deeper inorganic horizon resulting from the schist substratum alteration. Given the depths of the wells (1.4 - 2 m) and the interval over which they are screened (the lower 50 cm), the riparian groundwater samples were collected from the lower inorganic soil horizon, i.e. between –75 and –150 cm deep.

Hydrology within the riparian area has been intensively investigated. In order to categorize the regional aquifer and to determine whether mixing of different groundwater sources might confound data interpretation, some additional deeper piezometers (between 7 and 9 m deep) were installed at the upland-riparian interface (Fig. 2) and also within the riparian area. Furthermore, water samples were taking from the stream, the relict channel, and the 3 farm wells (from 7 to 30 m deep) in the surrounding catchment (DW1, DW2, and DW3, Fig. 2). Water levels measurements in each piezometer, as well as in the stream and the relict channel, were made at least once a month. All piezometers were surveyed using a GPS. Therefore topography and water table elevation were all referred to the sea level. Further investigations about time evolution of water table elevation was performed using both vertical and lateral profiles from uplands to the riparian zones and topographical maps. Hydraulic conductivities were performed using the "slug test" method (Fetter 1994). Finally, nitrate and chloride contents were measured in water samples coming from these additional wells, the stream, the relict channel, and the surrounding farm wells to help identify different water sources. Chloride concentration patterns were also evaluated within the study area, considering chloride as a conservative tracer (Altman and Parizek 1995).

Sampling and analytical procedures

Samples were collected on 4 dates; April 1998, August 1998, February 1999, and June 1999, corresponding to different water table levels ranging from high water period (i.e. February 1999) to low water period (i.e. August 1998). On each sampling date, water samples were collected from each riparian well. However, isotopic analyses were done only for a single well transect in each of the 2 zones, so we will focus on those 2 transects in this paper (1 transect in the Grassland zone, the other in the Shrub zone). We collected vegetation from the vicinity of wells in which isotopic analyses were to be performed. The vegetation sampling consisted of harvesting leaves of 5 different plant species which were present along the transects in both riparian sites, to account for possible interspecific variability in ^{15}N uptake. The sampled species were *Glyceria fluitans*, *Holcus lanatus*, *Symphytum officinale*, *Urtica dioica*, and *Ranunculus repens*.

For the 2 intensively sampled transects, all water samples were analyzed for nitrate, ammonium, total dissolved nitrogen (TDN), chloride, and $\delta^{15}N\text{-}NO_3$. Wells were sampled using a peristaltic pump, and one well volume was pumped before sampling. The water samples collected from the surrounding deep wells and the stream were also analyzed for nitrate, ammonium, chloride, and $\delta^{15}N\text{-}NO_3$. Water samples were stored in a cooler in the field and filtered (Whatman GF/C) upon return to the laboratory. Samples were analyzed within 24 h of collection for nitrate using a Technicon auto-analyzer (Technicon 1977) and ammonium (Solorzano 1969). Chloride was determined by titrimetric method using silver

nitrate electrode with a Sherwood Chloride Analyser 926 (Clarke 1950). Water samples to be analyzed for isotopic compositions of nitrate were processed using diffusion methods (Sigman et al. 1997, Holmes et al. 1998). Analytical deviation of $^{15}N\text{-}NO_3$ was assessed using standards (4 µM and 1000 µM NO_3) and samples replicates
All ^{15}N samples were analyzed by mass spectrometry after combustion of the sample to produce N_2. The isotopic composition of nitrate was measured using a Finnigan Delta S isotope ratio mass spectrometer, and the vegetation samples were analyzed using a similar instrument (PDZ Europa, UK), both at the Stable Isotope Laboratory, Marine Biological Laboratory, Woods Hole, Massachusetts. As is conventional, we will report nitrogen isotopic compositions using "del" notation, where $\delta^{15}N= [(R_{SA}/R_{ST})-1] \times 10^3$and $R=^{15}N/^{14}N$, expressed as ‰ deviation of the sample (SA) from the standard (ST) which is N_2 in atmospheric air ($\delta^{15}N$air=0‰).

Denitrification activity

"Ambient" denitrification (DNT) was assayed by a static core acetylene inhibition method (Yoshinari and Knowles 1976). Each riparian grid of wells was divided into 3 zones (Upper, Mid, and Lower) lateral to the hill slope. The "Upper" zone corresponded to the first wells of the transects (nearest the upland-riparian interface), the "Mid" zone ranged from the second to the third wells, and the" Lower" zone was in the vicinity of the last wells. Three soil samples were collected seasonally from each of the 3 zones of each riparian site, and at 3 different depths (i.e. 0-25 cm, 25-50 cm, and below 50 cm). Three intact cores (length 10 cm, diameter 3 cm) were then capped with rubber serum stoppers and amended with acetone-free acetylene to bring core atmosphere concentration to 10 kPa (10 % V/V) acetylene and 90 kPa air. Denitrification rate was calculated as the rate of nitrous oxide (N_2O) accumulation in the headspace after 2 hours of incubation at field temperature. Headspace samples were removed from all cores and stored in evacuated collection tubes (Venoject, Terumo Scientific N.J.). Gas samples were analyzed via gas chromatography (GC Chrompack CP 9001) equipped with an electron capture detector (ECD^{53}Ni) and Porapak Q columns. Estimates of annual N loss to denitrification were calculated by averaging seasonal measured rates. "Ambient" denitrification rates (DNT) were studied using Kruskal-Wallis non-parametric ANOVA of ranks. Differences were considered statistically significant at the $p<0.05$. All statistical analyses were performed on Statistica for Windows (Stat Soft, Tulsa, OK).

RESULTS

Hydrology

Ground water level in the riparian zone followed the stream hydrological regime with high water levels in late winter and early spring and low water levels in summer and early autumn (Fig. 3). In general, the water table fluctuated from 200 cm below the soil surface to 50 cm above the soil surface. Based on the intensive hydrological survey and the chloride and nitrate patterns, 3 main groundwater pools were detected. First, a deep water table from 4 m below the soil surface, which was characterized by low concentrations in nitrate, i.e. DW1 (Table 1).

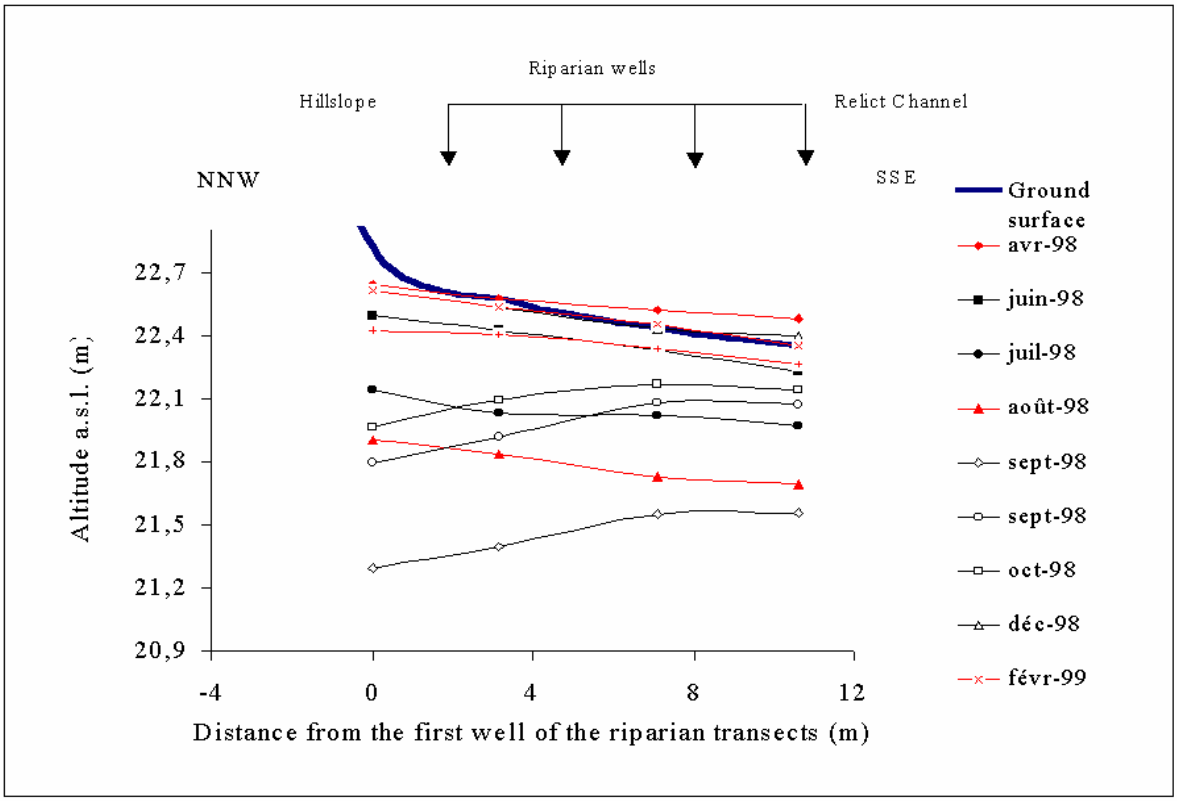


Fig. 3. Water table profiles along a riparian transect during the experimental period.

Second, DW2 and DW3 characterized the subsurface high nitrate-high chloride groundwater flowing from upland to the riparian zone. Finally, a shallow water layer, fluctuating between ground surface and 4 m deep, in which all our riparian wells were inserted. This last compartment received the upland flow from the hill slope and is characterized by intermediary nitrate concentrations. Some groundwater exchanges occurred between the relict channel and the shallow compartment, and could involve dilution especially for the 2 last wells of the riparian transects. However, low hydraulic conductivities may limit this dilution.

Table 1. Characterization of regional aquifer. These groundwater wells are all within 400 m of the study site. Averages ± Standard deviation of the mean.

Well Location	Depth (m)	Nitrate (mg N/L)	Chloride (mg Cl/L)	$\delta^{15}NO_3$-N (‰)
Deep Well 1	30-32	0.29 ± 0.12	38.2 ± 3.1	3.2
Deep Well 2	11	9.71 ± 1.26	42.1 ± 5.2	5.1
Deep Well 3	7-8	12.79 ± 2.11	39.3 ± 3.1	9.7
Stream water		4.63 ± 1.26	36.3 ± 3.3	8.2 ± 0.7

In the shallow groundwater, vertical and lateral profiles of the water table levels along the riparian transects allowed to distinguish 2 different periods in both the Shrub and the Grassland sites (Fig. 3). During high water period and recession, i.e. from April to August 1998, hydraulic gradients followed the soil topography, and groundwater flowed from upslope to downslope; no dilution with another water source such as deep groundwater *via* the relict channel could be possible. During the dry period and at the beginning of the recharge (i.e. from September to October 1998, about 2 months a year), the hydraulic gradients were reversed and showed a groundwater ridge for the 2 last wells of the transects, in which water table levels were higher than in the upslope wells. Therefore in this case, some mixing with the relict channel occurred. Yet, this mixing between shallow water layer and deep water was limited in time, but also in space given the low hydraulic conductivities characterizing the riparian soils in that section. After significant rainfall and once the water table reached a minimal depth, the hydraulic gradient again followed the soil topography, and subsurface flow from the hill slope was re-established (November and December 1998).

Patterns of nitrogen concentrations

Nitrate concentration declined greatly as groundwater flowed through the riparian zone of Petit Hermitage Creek. Along both the Grassland and Shrub riparian transects, groundwater nitrate concentrations dropped on average from 16.03 mg N/L ± 1.83 SD to 0.65 mg N/L ± 0.44 SD and from 15.47 mg N/L ± 2.60 SD to 0.83 mg N/L ± 0.93 SD within 9 m of travel in the Shrub and the Grassland sites respectively (Fig. 4).

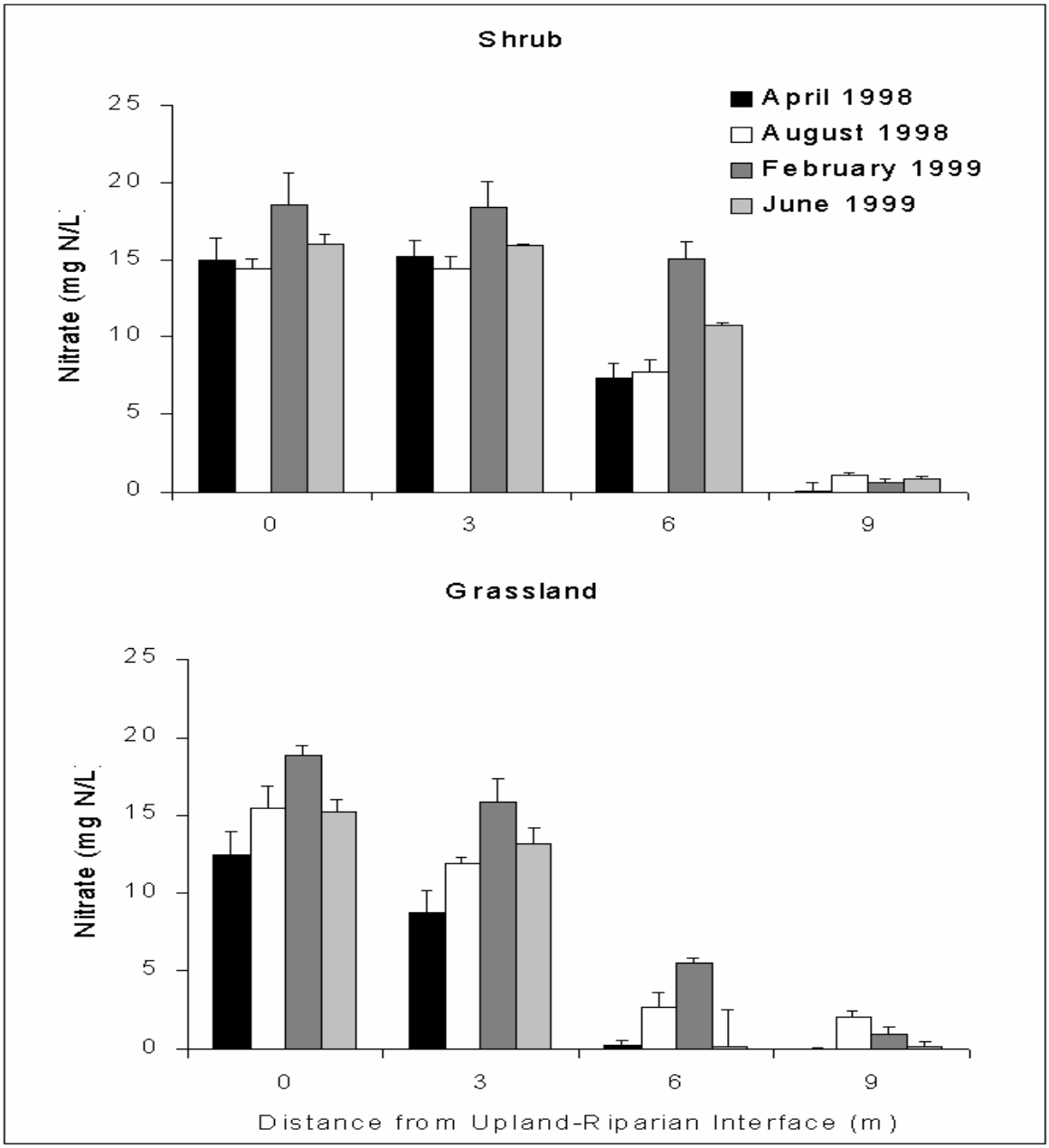


Fig. 4. Groundwater nitrate concentrations in riparian transects along Petit Hermitage Creek, northwest France. Nitrate concentrations in both the Shrub (A) and Grassland (B) sites generally exceeded 15 mg N/L at the upland-riparian interface but decreased to less than 2 mg N/L within the first 10 m of the riparian zone.

However, nitrate concentrations along the Grassland transect were already reduced to 2.16 mg N/L ± 2.55 SD after 6 m of travel, while Shrub groundwater NO_3 concentration was still at 10.25 mg N/L ± 3.55 SD. Furthermore, at the upland-riparian interface, nitrate concentrations were always higher in winter period (i.e. February 1998). Nitrate contributed to most of the total dissolved nitrogen concentrations. Ammonium concentrations were always ≤1 mg N/L (average value 0.25 mg N/L ± 0.04 SD). Wells DW2 and DW3, located in the surrounding catchment and 7-11 m deep, showed similar groundwater nitrate concentration (9.71 mg N/L ± 1.26 SD and 12.79 mg N/L ± 2.11 SD respectively) to groundwater entering the Shrub and the Grassland sites (Table 1). In the deepest well (DW1; 30 m deep), groundwater nitrate concentrations were very low (0.29 mg N/L ± 0.12 SD).

Finally, stream water had a rather constant nitrate concentration, with an average of 4.63 mg N/L ± 1.26 SD during the experimental period (from April 1998 to June 1999).

"Ambient" denitrification measurements

"Ambient" denitrification measurements were performed seasonally along the soil profiles within the 2 riparian sites. At any given depth (i.e. 0-25 cm, 25-50 cm, and below 50 cm) and in any given zone (i.e. Upper, Mid, and Lower), no significant seasonal pattern of DNT was detected in the different sites. Hence, we discuss here annual average activities. DNT were significantly higher (from 247 ± 71 SE to 689 ± 173 SE µg $N\text{-}N_2O$ g^{-1}dry soil.day^{-1}, $p<0.01$) in the upper organic horizon than in the lower ones. Yet despite the steep gradient of DNT rates measured along the soil profiles, some significant activities (from 186 ± 45 SE to 294 ± 93 SE µg $N\text{-}N_2O$ kg^{-1}dry soil.day^{-1}) were detected down to 75 cm deep (Table 2).

Table 2. Annual averages ± Standard error of the means (n=9) of "ambient" denitrification activities along the Shrub and the Grassland transects at 3 different depths. "Upper" is close to hill slope corresponding to the first wells of the transects, while "Lower" is close to the last wells of each transect.

Depths		Upper µg N-N2O kg^{-1} day^{-1}	Mid µg N-N2O kg^{-1} day^{-1}	Lower µg N-N2O kg^{-1} day^{-1}
0-25 cm	Shrub	247 ± 71	502 ± 172	637 ± 200
	Grassland	689 ± 173	598 ± 164	637 ± 205
25-50 cm	Shrub	180 ± 27	175 ± 27	313 ± 126
	Grassland	389 ± 109	268 ± 66	257 ± 72
Below 50 cm	Shrub	227 ± 44	195 ± 24	186 ± 45
	Grassland	226 ± 55	294 ± 93	284 ± 96

In the shallow soil layer, the Grassland riparian site generally had higher DNT rates than the Shrub site. Furthermore, Grassland DNT activities were relatively constant along the slope, while Shrub DNT showed a sharp increase from the upper to the lower zone.

Isotopic data

The deep groundwater sampled in the farm wells had $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ values varying from 3.2 ‰ for DW1, i.e. the deepest farm well, to 9.7 ‰ for DW3 (Table 1). $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ mean value found in the groundwater entering the riparian site was 7.22 ‰ ± 1.75 SD (Fig. 5).

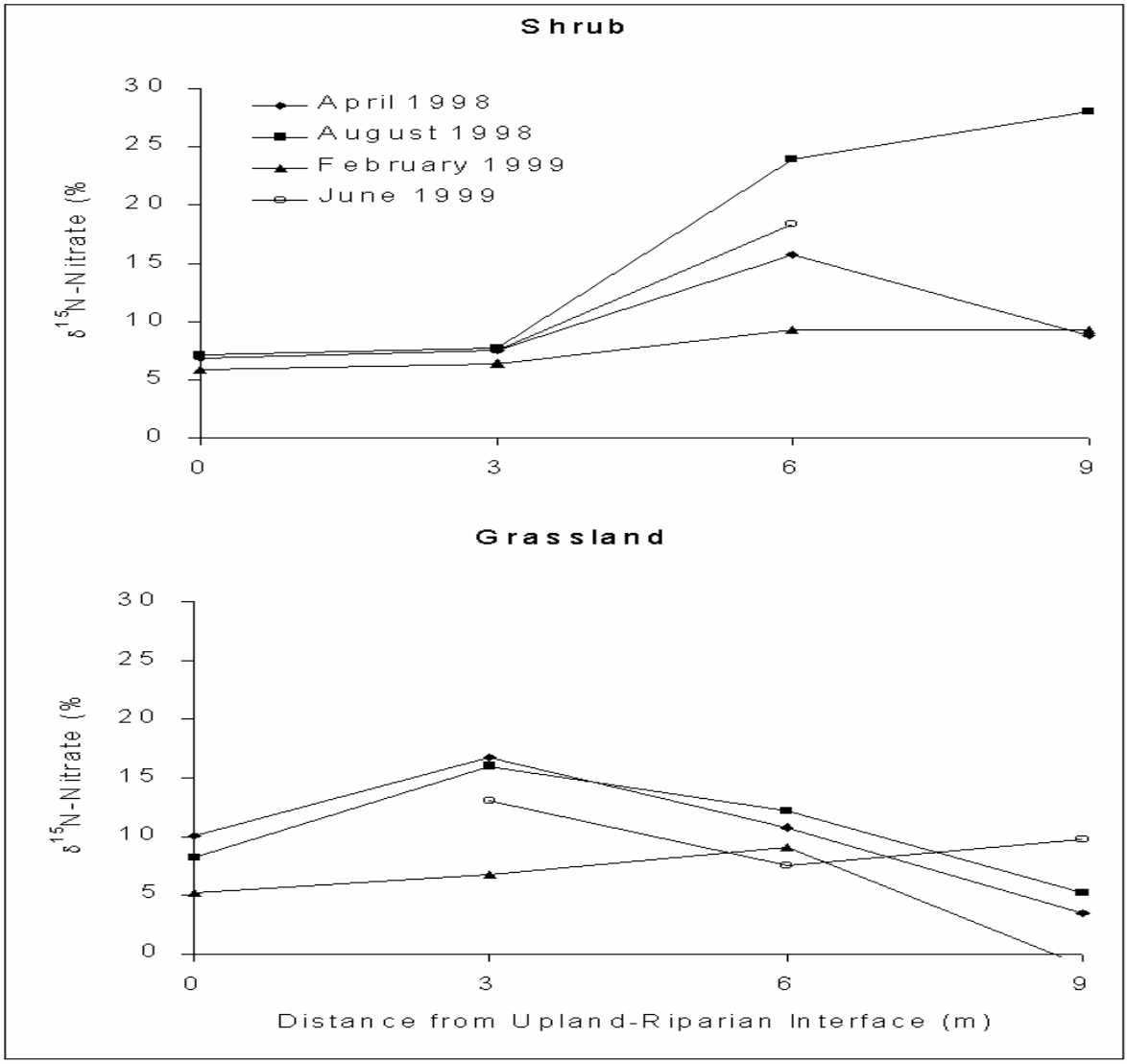


Fig. 5. $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ in groundwater wells of the riparian Grassland site (A) and riparian Shrub site (B) on 4 different dates. Each $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ value represents a measurement from a single sample. Analytical deviation is estimated about ± 3.26 % (SD).

Further downstream the residual NO_3^- pool became enriched in ^{15}N along the transects. However, differences between both study sites were noticeable. In contrast, Grassland $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ increased from 7.83 ‰ ± 2.47 SD at the upland-riparian interface to 13.10 ‰ ± 4.55 SD in the second well, and then declined to 4.36 ‰ ± 4.44 SD in the following wells. While, Shrub $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ slightly increased from 6.60 ‰ ± 0.62 SD at the upland-riparian interface to 7.28 ‰ ± 0.59 SD in the second well, and then progressively increased to 15.37 ‰ ± 10.94 SD with a maximum of 28 ‰. In addition, $\delta^{15}N$-nitrate exhibited a seasonal pattern in both riparian sites, i.e. February had the lowest values while highest ones were found in August.
Three groups were apparent when groundwater nitrate concentrations were plotted against $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ (Fig. 6).

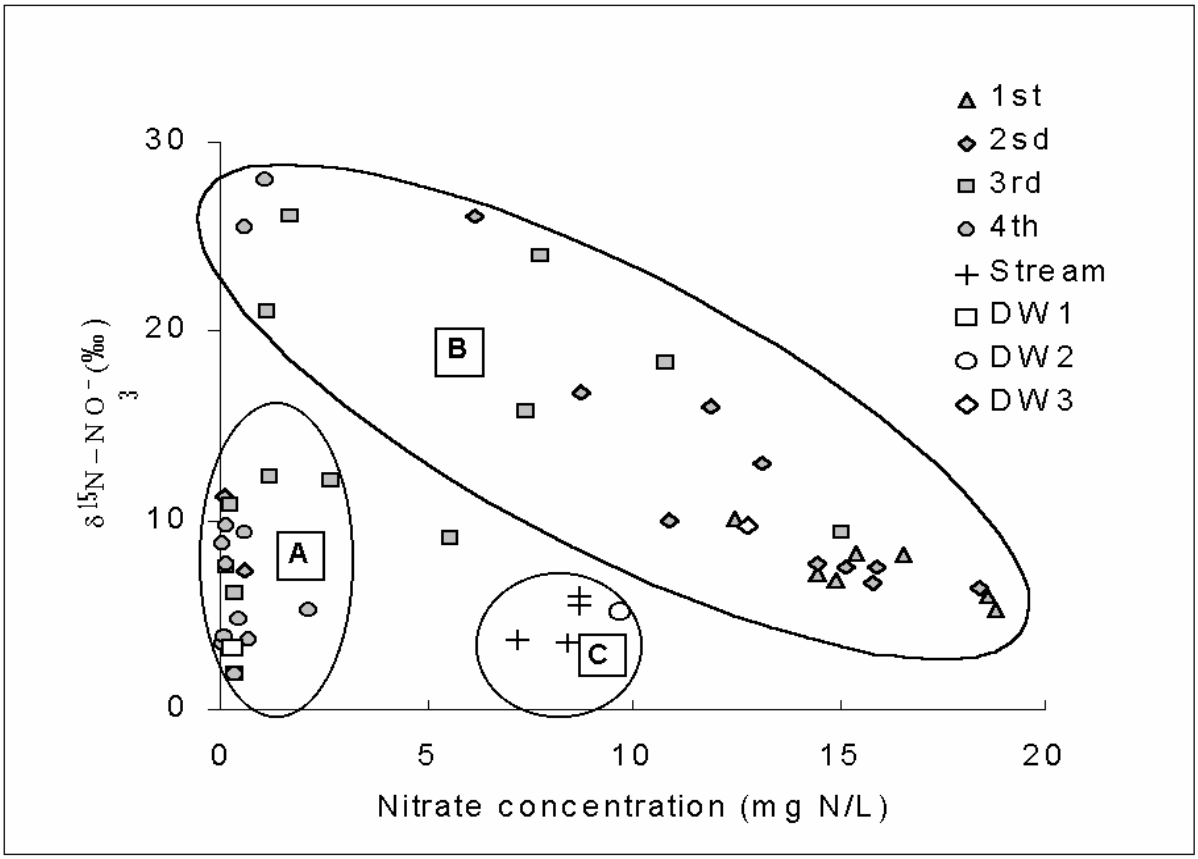


Fig. 6. Relationship between nitrate concentration and $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ in riparian groundwater samples from the "Petit Hermitage" Creek study site. All sampling dates are included and distinction is made according the position of each sample along the riparian transects. Three groups of samples are identified and discussed in the text.

The first group (A) comprised samples with low nitrate concentrations and low $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ which corresponded mostly to downslope areas. The second group (B) was constituted by samples collected along the groundwater flowpath from the hill slope-wetland interface. Their nitrate concentrations were inversely correlated to their $\delta^{15}N\text{-}NO_3$. The third group (C) comprised stream water samples and the farm well closest to the stream (DW2). The deepest hill slope well (DW1) had nitrate concentration and $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ similar to group A while the other hill slope well (DW3) was similar to the second group (B).

Assuming that denitrification controlled the observed nitrate decline, we calculated the per mil fractionation factor (ε) from the slope of the regression of Ln [NO_3-N] versus $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ (Mariotti et al. 1981, Fustec et al. 1991) (Fig. 7).

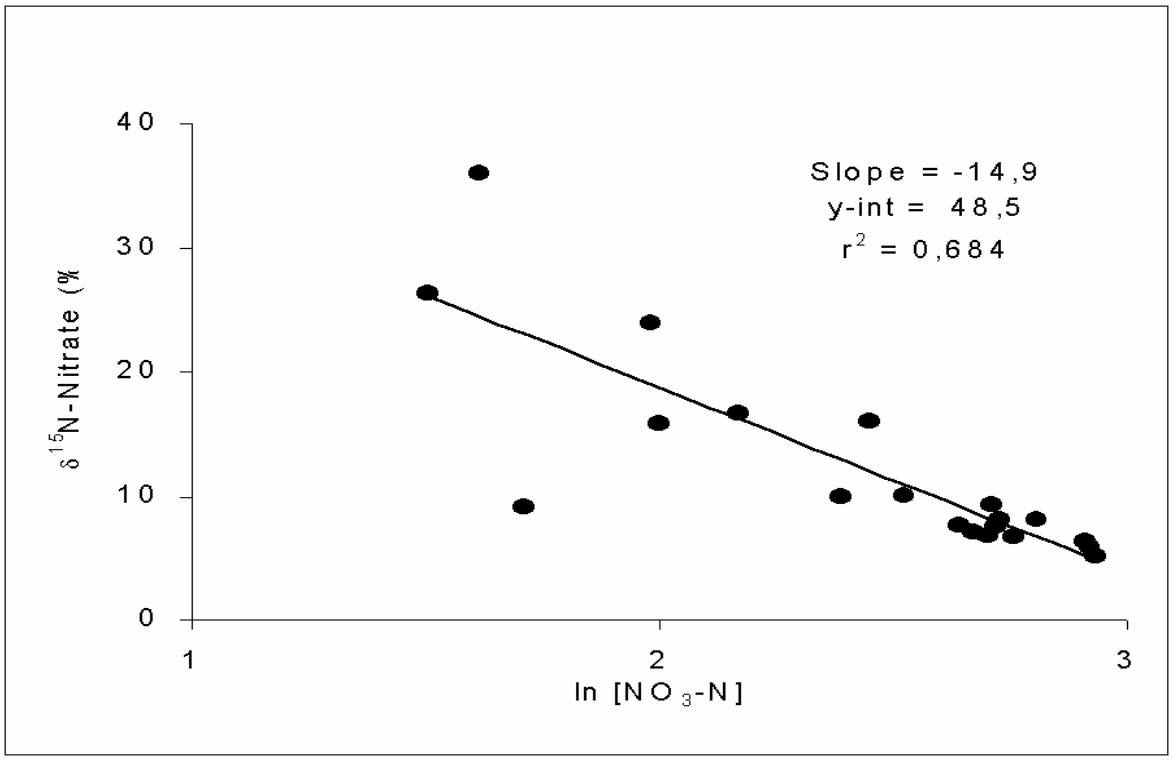


Fig. 7. Plot of Ln [NO_3-N] versus δ^{15}N-NO_3, the slope of which gives ε, the fractionation factor (-8.38 ‰). Each δ^{15}N-NO_3 value represents a single groundwater sample.

This fractionation factor (ε) is the instantaneous difference in isotopic composition of reactant and product of the denitrification, i.e. nitrate and N_2 or N_2O, respectively. In this analysis, we used samples corresponding to the hill slope-riparian interface (group B, Fig. 6). We excluded samples in Group A because of potential problems associated with mixing and dilution. The slope of the regression of Ln [NO_3-N] versus δ^{15}N-NO_3 (i.e. the fractionation factor) was – 8.38 ‰ (Fig. 7).

Plant uptake

$\delta^{15}N$ in plants sampled near the piezometers have been plotted against the groundwater $\delta^{15}N$-NO_3 measured in the corresponding riparian wells (Fig. 8). $\delta^{15}N$ measured in plant samples were all enriched compared to typical values for terrestrial vegetation and their $\delta^{15}N$ spanned from +1.7 to +14.2 ‰. During the high water period, which corresponds to the February sampling period, samples showed similar $\delta^{15}N$ both in vegetation and groundwater samples along the hill slope-riparian transect. During the drier sampling periods, i.e. April, June, and August, higher $\delta^{15}N$ were found in the groundwater NO_3 than in their corresponding plant samples. No significant differences were detected in the $\delta^{15}N$ of the sampled plant species (Table 3). Most of the species had a large range of $\delta^{15}N$.

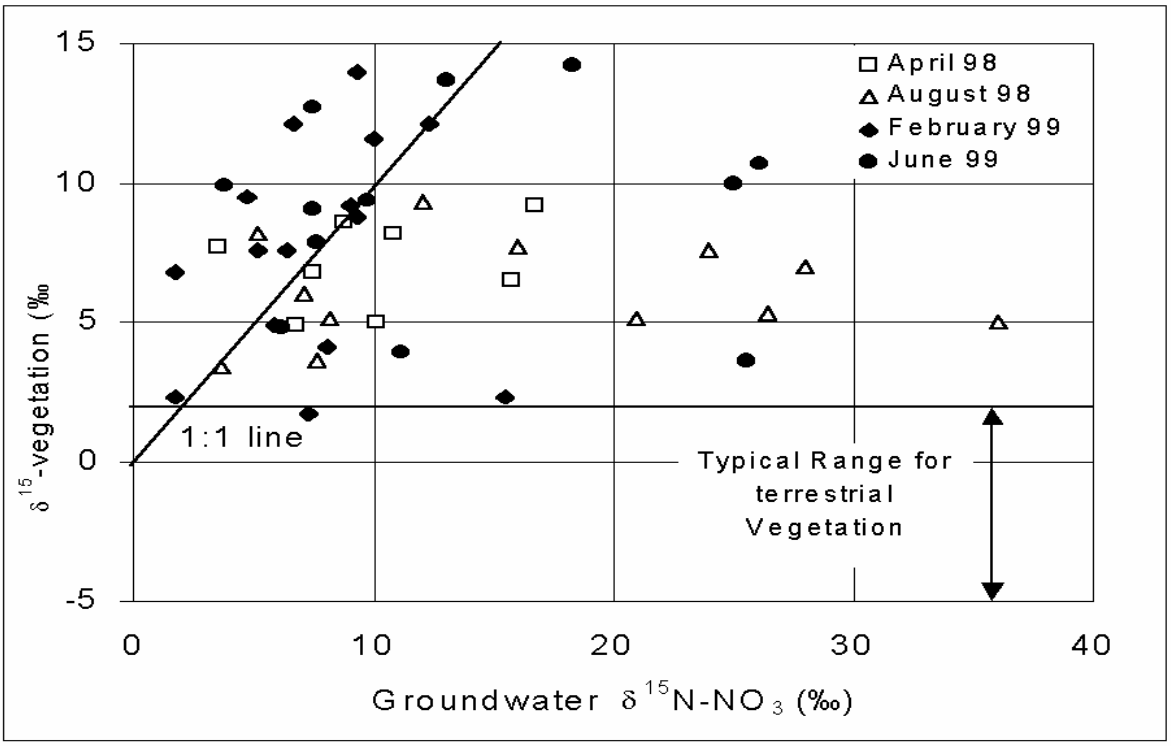


Fig. 8. Relationship between $\delta^{15}N$-NO_3 in riparian groundwater and the $\delta^{15}N$ isotopic composition of overlying vegetation as a function of the sampling date.

Table 3. $\delta^{15}N$ ranges found in the tissues of the different riparian plant species sampled along the Shrub and the Grassland transects.

Plant Species	Range of $\delta^{15}N$ measured (‰)
Glyceria fluitans	8.2 - 9.3
Holcus lanatus	5.0 - 9.2
Symphytum officinale	3.4 - 7.6
Urtica dioica	1.7 - 8.6
Ranunculus repens	4.1 - 14.2

DISCUSSION

Groundwater nitrate elimination along the flowpaths

The undertaken hydrological investigations, using water table elevation survey and Nitrate-Chloride patterns, gave insights about both water sources and flowpaths. Different groundwater sources have been identified, i.e. the upland flow, the riparian shallow water layer in which the investigated wells were inserted, and the deep groundwater layer linked to the relict channel because of its low altitude. Given the water table levels observations, 2 patterns could be identified (Fig. 3), i.e. from April to August with groundwater flows following the slope, and from September to October with inversed hydraulic gradients and potential dilution with deep groundwater. However, the sampling dates for this ^{15}N study correspond to the first period. Hence, although dilution occurrence could not be totally ignored it is likely to be limited in space and time during our experimentation (Fig. 3). Obviously, groundwater nitrate concentrations decreased along both the Shrub and the Grassland transects (Fig. 4). In the mean time, ammonium concentrations were constantly very low (i.e. ≤1 mg N/L) and dissolved organic nitrogen remained essentially unchanged and very low, since total dissolved nitrogen concentrations were nearly equivalent to nitrate values. Therefore, the groundwater nitrate decline along the riparian transects was not due to conversion to ammonium or dissolved organic N, but instead resulted from biotic processes, mainly denitrification and/or plant uptake. Indeed, "ambient" denitrification measurements demonstrated that this microbiological process occured in each riparian site, and thus could contribute to the groundwater nitrogen removal (Table 2). Despite the lack of seasonnal pattern, high DNT rates were measured in the upper and middle zones of the Grassland site which correspond to the sharp decrease of the groundwater nitrate concentrations (Fig. 4). Likewise, the DNT activities in the Shrub site, which were higher from the middle to the lower zone, could be related to the sharp decrease of groundwater nitrate concentrations at 9 m. However, in accordance with other studies of denitrification activity at depth (Groffman et al. 1992, Lowrance 1992), these strong denitrification rates were mostly limited to the organic upper horizon (i.e. 0-25 cm) and significantly decreased along the soil profiles (Table 2). The deep DNT activities were measured at depth in our sites. They are in accordance with some studies which found significant denitrification potential in soils in contact with groundwater (Smith and Duff 1988, Obenhuber and Lowrance 1991), yet it is still difficult to conclude that denitrification is responsible for all the nitrate elimination. This is particularly true when the groundwater table is far from the soil surface (i.e. August 98), but also during high water period since the contact between the most denitrifying soil layer and the subsurface water is restricted to the 25-50 first centimeters.

$\delta^{15}N$-NO_3 and denitrification

In our riparian wells along Petit Hermitage Creek, we found that $\delta^{15}N$-NO_3 varied from less than 5 ‰ to greater than 25 ‰ and in most cases, nitrate concentration and $\delta^{15}N$-NO_3 were inversely related (Fig. 6). This clearly underlines the importance of denitrification in the elimination of nitrate, since based on the hypothesis that denitrification contributed to nitrate decline along the riparian flowpaths, we predict that $\delta^{15}N$-groundwater NO_3 would increase as groundwater nitrate concentration declined (Fig. 1).

At the upland-riparian interface, $\delta^{15}N$-NO_3 values of the high nitrate groundwater were relatively low, ≤10 ‰ (Figs. 5A & B). However, as nitrate concentration declined (until nitrate values were ~2 mg N/L), $\delta^{15}N$-NO_3 values generally increased (Fig. 6). Since the groundwater at the upland-riparian interface (Figs. 5A & B) as well as all deep groundwater samples (Table 1) had $\delta^{15}N$-NO_3 values <10 ‰, the elevated $\delta^{15}N$-NO_3 in the riparian zone

could not have arisen by mixing of these different water sources. Thus, the elevated $\delta^{15}N$-NO_3 values in the riparian zone are clear evidence that denitrification is contributing to the observed nitrate decline. This is also supported by the calculated fractionation factor –8.38 ‰, which is close to the fractionation factor of –13.9 ‰ reported for denitrification occurring in groundwater on Cape Cod, Massachusetts, USA (Smith et al. 1991), and a ε value of -15.9 ‰ for denitrification in a sandy aquifer in Germany (Böttcher et al. 1990) (Fig. 7).

Groundwater samples with low nitrate concentrations presented a large range of $\delta^{15}N$-NO_3 (Fig. 6). High $\delta^{15}N$-NO_3 samples (Group B) were probably taken along the downstream part of the hill slope-riparian groundwater flowpath, where the residual highly $\delta^{15}N$-nitrate gets further denitrified. The low $\delta^{15}N$-NO_3 samples (group A), which were mostly taken along the lower part of the hill slope-riparian transects, could have 2 different causes. The first possibility is that another water source, such as the deep regional groundwater with a low nitrate concentration and relatively low $\delta^{15}N$-NO_3 value (e.g. DW1, see Table 1), was up-welling to some extent in the vicinity of the last wells of the riparian transects, involving mixing with the denitrified upland flow, and decreasing the $^{15}N/^{14}N$ ratios. Yet, this hypothesis can be discarded in the present study since hydrological investigations did not support it. The alternative explanation is that the low $\delta^{15}N$-NO_3 values measured in these low nitrate riparian samples (Group A) derived from nitrate leaching from the overlying soil layer.

Seasonal patterns

The seasonal variations of the $\delta^{15}N$-NO_3 natural abundance along each investigated transect give evidence of the seasonal variability of the importance of denitrification to groundwater nitrate removal (Figs. 5A & B), and illustrates an interesting contribution of the isotopic approach compared to the classical denitrification measurement based on the acetylene block method. Indeed, while "ambient" denitrification measurements did not exhibit any significant seasonal pattern (Table 2), the ^{15}N natural abundance survey showed that groundwater nitrate was more likely processed by denitrification in August 1998 than in April or February (Figs. 5A & B). Moreover, in term of $\delta^{15}N$-NO_3 trends, a distinction can be made between the 2 investigated riparian zones. On the one hand, the $\delta^{15}N$-groundwater NO_3 increased along the Shrub riparian transect from 3 m indicating that the "active zone", i.e. the zone where denitrification is processing the groundwater nitrate, started 3 m after the hill slope. On the other hand, the Grassland $\delta^{15}N$-groundwater NO_3 trend showed that the active zone is located closer to the hill slope (within the first 3 m) and more limited in space, since the $\delta^{15}N$-NO_3 is generally decreasing beyond this point (Fig. 5). These different $\delta^{15}N$-NO_3 patterns concerning 2 riparian transects, which are closely located, illustrate the spatial heterogeneity of buffering system that might occur even within a similar hydrogeomorphic context.

Uptake versus denitrification

We have already established that $\delta^{15}N$-NO_3 varied in riparian groundwater along Petit Hermitage Creek indicating that denitrification was significantly contributing to nitrate retention in the riparian zone. Yet, uptake of groundwater nitrate by riparian vegetation could also contribute to the observed nitrate decline. As was hypothesized, if all of the groundwater nitrate decline were due to uptake, little change in residual $\delta^{15}N$-NO_3 would be expected (Fig. 1). However, if uptake by riparian vegetation and denitrification were both contributing to the observed nitrate decline, we would expect that the isotopic composition of the overlying vegetation would reflect the isotopic composition of the underlying riparian groundwater. In the present study, we found that there was a significant ^{15}N enrichment of the riparian plants tissues (from +1.7 to +14.2 ‰) compared to the typical isotopic composition of terrestrial vegetation (Fry 1991, Gebauer and Schulze 1991, Nadelhoffer and Fry 1994). This

enrichment was apparent regardless of season, species, site, or position along the transect (Fig. 8). This pattern demonstrates that the riparian vegetation assimilates the residual ^{15}N enriched nitrogen resulting from fractionation during the denitrification process, and that plant uptake and denitrification both contribute to nitrate retention at shallow depth (i.e. upper 25-50 cm).

Uptake by riparian vegetation made a direct contribution to nitrate retention at shallow depth in the riparian sites, at least during high water period. Indeed we found relationships between $\delta^{15}N$-groundwater NO_3 and $\delta^{15}N$ of the surrounding vegetation during high water period, i.e. February, April (Figs. 3 & 8), when groundwater table level was within the root zone (i.e. upper 50 cm). In August the groundwater table was located below the root zone. This is counter to the commonly accepted model for temperate zone riparian ecosystems, which stipulates that nitrate uptake by vegetation is a dominant nitrate retention process during summer (Haycock et al. 1993). During low water periods, the soil is more aerated and plants can therefore change their nitrate source from groundwater which becomes inaccessible to soil nitrate resulting from organic matter mineralisation. This nitrogen soil pool is isotopically "lighter" due to fractionation during nitrification and could explain the lower $\delta^{15}N$ of plant tissues in summer. During high water periods, the soil is water logged and plants may have difficulty assimilating nitrate from soil *via* nitrification that is likely to be blocked under anaerobic conditions; hence groundwater becomes the primary source of nitrate, whatever is accessible after denitrification and/or competition with denitrification.

In other words, the soil profile can be seen as 2 compartments: one is the surface soil or unsaturated zone (approximately the upper 50 cm) where denitrification measurements are commonly made, and the other is deeper (below 75 cm) where subsurface water continually flows. Groundwater nitrate is removed in both soil compartments in high water periods and mainly by the deeper soil horizons in low water periods, though a capillarity fringe may exist. Given the rooting depth (less than 50 cm), the riparian vegetation of our study site is directly linked only to the surface soil layer. Yet, there also might be important indirect effects of riparian vegetation on groundwater nitrate retention in lower horizons. For example, organic matter exudates from roots, or leaching of organic matter from leaves of dying vegetation on the soil surface, may be critical energy sources for denitrifying bacteria (Cooper et al. 1986). On the other hand, denitrification potentially occurs in each compartment. Therefore, in high water period, denitrification in the ground surface and vegetation uptake are linked and $\delta^{15}N$-groundwater NO_3 are correlated to $\delta^{15}N$-vegetation (e.g. February). During low water periods, vegetation uptake and groundwater nitrate are spatially disconnected and their respective $^{15}N/^{14}N$ ratios tend to differ (e.g. August).

CONCLUSION

Nutrient concentration data and classical "ambient" denitrification measurements were inconclusive in determining the respective role of denitrification and uptake in groundwater nitrate elimination. The utilization of the natural abundance distribution of nitrogen isotopes allowed further investigation of the mechanisms of nitrogen elimination in a riparian ecosystem. We demonstrated that denitrification was the primary mechanism responsible for the observed nitrate concentration decline along riparian groundwater flowpaths, even when the water table was deeper than the most active soil layer in term of denitrification activity. A benefit of this in situ approach is that it facilitates detection of denitrification at depth, since even relatively low denitrification rates can be inferred by an inverse relationship between nitrate concentration and $\delta^{15}N\text{-}NO_3$. Moreover, this method avoids concerns commonly associated with microcosm or mesocosm scale measurements of denitrification, such as whether denitrification rates measured in isolated sediment slurries adequately represent actual conditions occurring in the field. In addition, $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ gave better insights into the spatial and temporal variations of the denitrification activity within the riparian zones as a mean of buffering the uplands nitrate fluxes. Measurements of $\delta^{15}N$ in riparian plant tissues demonstrated the shared contribution of denitrification and plant uptake in the groundwater nitrate decline, especially during high water periods. These results gave insights on the understanding of how the nitrate elimination is spatially and temporally organized within the soil profile in respect to denitrification and plant uptake activities. Indeed, given this isotopic investigation, riparian soil profile can be seen as 2 compartments in which the vegetation and the denitrification irregularly participate in groundwater nitrate retention as a function of the water table levels. Thus, the ^{15}N natural abundance surveys in both groundwater and riparian vegetation improved our understanding of the spatial structure of denitrification and groundwater nitrate removal within the riparian ecosystem in northwest France and should likewise benefit studies on nitrogen cycling in riparian forests in other sites as well. In terms of further use and development of this isotopic approach, the overall high ^{15}N enrichment found in the plants located in a riparian zone where denitrification is occurring suggests that the $^{15}N/^{14}N$ ratios measurements into plant tissues could be used to easily identify real denitrification spots as opposed to potential ones. Although the natural abundance distributions of nitrogen isotopes do not always unambiguously identify nitrogen cycling processes, locations, and rates, they do greatly constrain the range of viable explanations for nutrient concentration changes and thus improve our understanding of riparian ecosystem functioning.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by a European Union project called Nitrogen Control in Agricultural Landscapes (NICOLAS, grant # ENV4-CT97-0395), by a visiting scientist fellowship from the University of Rennes to R. M. Holmes, and by NSF-9524740 and NSF-9818199.

SYNTHESE

L'utilisation de l'abondance naturelle de l'azote 15 (^{15}N) a permis d'approfondir la compréhension des processus responsables de la rétention de l'azote dans nos sites d'étude. En effet, bien que l'hydrologie des zones riveraines étudiées soit relativement complexe, le suivi des teneurs en ^{15}N dans les nitrates de l'eau de nappe et dans les tissus de la végétation riveraine a démontré que la dénitrification était bien à l'origine de la majeure partie de la diminution des concentrations en nitrate observée le long des transects de piézomètres.

Les investigations menées préalablement sur l'organisation hydrologique des sites d'étude ont mis en évidence les principales sources d'eau de subsurface qui participent à l'alimentation de la plaine inondable (cf. chapitre I). Pour éviter toute ambiguïté nous avons choisi de travailler hors période de dôme piézométrique, la teneur en ^{15}N du puit profond DW1 confirmant la faible probabilité d'un phénomène de dilution avec la nappe profonde captive dans les derniers piézomètres des transects investigués. En effet, l'enrichissement en ^{15}N des nitrates de la nappe de subsurface a lieu au fur et à mesure qu'elle traverse la portion de zone humide étudiée (Figure 5A et B) pour atteindre des valeurs maximales de 28 ‰ alors que le $\delta^{15}N$ de l'eau profonde est faible (3.2 ‰) (Figure 6). Dans le même temps les concentrations en nitrate diminuent drastiquement (Figure 4).

Les mesures préalables de l'activité dénitrifiante *in situ* ont confirmées que ce processus microbiologique était bien actif sur l'ensemble des sites et qu'il pouvait être à l'origine de l'élimination des nitrates (cf. chapitre II). Malgré l'absence de variations saisonnières, les mesures de dénitrification en surface semblent en effet corréler la diminution des teneurs en nitrate le long des transects, cependant il restait difficile de conclure que cette activité était majoritairement responsable de cette diminution. Cela est particulièrement vrai en période de basse eaux lorsque la nappe est loin de l'horizon de surface, mais c'est aussi exact en période de hautes eaux étant donné la faible proportion de nappe qui est en contact avec ce l'horizon le plus actif.

La corrélation inverse entre les concentrations en nitrates et leurs teneurs en ^{15}N a cependant clairement mis en évidence que la dénitrification était responsable de la rétention de l'azote le long des transects (Figure 6 – groupe B). Concernant les piézomètres les plus éloignés du pied de talus, leurs teneurs en ^{15}N se répartissent sur une large gamme de valeurs (Figure 6 – groupe A). Ceux à fort $\delta^{15}N$ sont les nitrates "rescapés" de la dénitrification et donc enrichis en ^{15}N, alors que les nitrates présentant de faibles $\delta^{15}N$ révèlent la possibilité d'une autre origine. Ils pourraient provenir de la nappe profonde, mais cette hypothèse est à écartée puisque nous avons évité de mesurer l'abondance naturelle du ^{15}N en période de dôme piézométrique. Ces nitrates faiblement enrichis proviennent probablement d'une autre source telle que la minéralisation de l'azote organique contenu dans le sol.

Un autre apport majeur de l'abondance naturelle des isotopes stable de l'azote est la mise en évidence des variations saisonnières de la dénitrification qui n'avaient pas été révélées par la mesure classique de ce processus. En effet, d'après nos résultats il semble que la dénitrification soit plus active en termes de rétention d'azote en été qu'au printemps ou même en hivers (Figures 5A et 5B), ce qui est en opposition avec le schéma classique dans lequel la dénitrification est essentiellement active en période hivernale.

L'observation de l'augmentation des teneurs en ^{15}N dans l'eau de la nappe permet aussi de délimiter la zone "active" dans laquelle l'élimination des nitrates par la dénitrification est la plus intense. Ainsi, la friche présente une augmentation du $\delta^{15}N\text{-}NO_3$ à partir de 3 m au-delà du pied de talus, alors que l'augmentation se fait dès le pied de talus dans la Prairie (Figure 5). Cette distinction entre 2 transects pourtant proches l'un de l'autre illustre l'hétérogénéité spatiale des zones tampons qui peut exister dans un même contexte hydrogéomorphologique.

Au regard des hypothèses énoncées en introduction de ce chapitre, les teneurs en azote 15 de la végétation riveraine confirme que la dénitrification microbiologique élimine en partie les nitrates présents dans le sol. En effet, les échantillons de tissus végétaux prélevés le long des transects présentent bien des teneurs en ^{15}N nettement supérieures à ce que l'on observe habituellement dans les tissus des plantes terrestres (Tableau 3). La végétation riveraine utilise donc l'azote enrichis en ^{15}N par le processus de dénitrification. En d'autres termes, la végétation et la dénitrification participent ensemble à la rétention de l'azote dans les 50 premiers centimètres du sol, le système racinaire des plantes ne s'étendant pas au-delà. Ceci est vrai en période de hautes eaux (Février et Avril), lorsque la nappe atteint la zone racinaire (Figures 3 et 8). En période de basses eaux (Août), la nappe est localisée en dessous de la zone racinaire, les nitrates prélevés par la végétation sont alors issues de la nitrification en surface et donc moins enrichis en ^{15}N (Figure 8). Ainsi, la végétation participe beaucoup moins à la rétention des nitrates de la nappe en été. Encore une fois, ceci est en contradiction avec le modèle communément accepté pour les zones tempérés stipulant que l'assimilation végétale est le phénomène prédominant de rétention de l'azote en été.

En résumé, le sol des zones humides riveraines peut être considéré comme l'assemblage de 2 compartiments: l'horizon de surface (environ les 50 premiers centimètres) qui subit les plus fortes fluctuations de nappe et l'horizon situé au delà de 75 cm de profondeur où la nappe s'écoule continuellement. En hautes eaux, ces 2 compartiments participent à la rétention de l'azote par la dénitrification sur l'ensemble du profil et par l'assimilation végétale sur les 50 premiers centimètres (zone racinaire). On observe alors une bonne corrélation entre les $\delta^{15}N$ de la végétation et les $\delta^{15}N$ des nitrates de la nappe (Février, Figure 8).

En basses eaux, les nitrates de la nappe sont seulement éliminés par la dénitrification en profondeur, même si une remontée par capillarité vers les 50 premiers centimètres peut exister. Les $\delta^{15}N$ de la végétation et des nitrates de la nappe ont alors tendance à différer (Août, Figure 8). Ainsi, la végétation riveraine de la Friche et de la Prairie est essentiellement reliée à l'horizon de surface, même si elle peut aussi avoir des effets indirects sur les horizons plus profonds (fourniture de carbone).

En conclusion, le suivi de l'abondance naturelle de l'azote 15 permet de préciser les variations spatiales et temporelles du phénomène de rétention de l'azote dans les zones riveraines, et ce au regard des deux principaux processus en action; l'assimilation végétale et la dénitrification. En termes de perspectives, l'enrichissement global en ^{15}N de la végétation riveraine de nos sites d'étude pourrait être utilisé comme moyen de différencier rapidement les zones où la dénitrification a réellement lieu de celles où elle est seulement potentielle.

CHAPITRE IV – LA VEGETATION

INTRODUCTION

L'azote est prélevé par les plantes des zones humides sous forme de N-NH_4^+, de N-NO_3^-, d'urée, ou même de N_2O et N_2 (Reddy et al. 1989). Dans la plante les nitrates absorbés doivent être transformés en ammoniaque avant tout autre transformation, les ions NH_4^+ seront donc préférentiellement absorbés. La transformation des ions NO_3^- en ammoniaque a lieu au niveau des feuilles grâce à l'enzyme Nitrate Réductase (Vincent and Downes 1980). La minéralisation nette peut limiter les taux d'assimilation végétale puisqu'elle joue le rôle de principale source d'azote dans de nombreuses zones humides (Bowden 1987).

Les zones riveraines sont connues pour être capable de "capturer" et de transformer les composés azotés provenant des écoulements de la nappe de subsurface. Par le biais de ces capacités, l'écosystème riverain peut fonctionner comme une zone tampon qui réduit la pollution azotée diffuse des eaux de surface résultant des activités agricoles. L'assimilation végétale et la dénitrification peuvent être considérées comme étant les plus importants processus parmi ceux qui permettent la rétention de l'azote.

Cependant, dans de nombreuses ripisylves naturelles, l'absorption de nutriments par les plantes reste temporaire et les composés azotés peuvent être à nouveau libérés dans l'écosystème *via* la chute de litière, les exsudats racinaires et la minéralisation. Le taux de nutriments recyclés dans les zones riveraines est déterminé par de multiples facteurs: la longévité des plantes, la réfractabilité de la litière et par les conditions nécessaires à la décomposition. Au final, la végétation n'élimine pas les nutriments de l'écosystème mais elle peut cependant accroître sensiblement leur temps de résidence en réduisant la mobilité des composés azotés qui pourront alors être éventuellement pris en charge par d'autres processus.

En ce qui concerne nos sites d'étude, les fortes entrées en nutriments sont susceptibles d'augmenter significativement le turn-over des composés azotés en accélérant le développement végétal, en diminuant la longévité de certaines parties des plantes, en augmentant les teneurs en nutriments des tissus végétaux (translocation réduite) et en abaissant la teneur en métabolites secondaires dans la litière.

Au-delà de ce stockage temporaire du nutriment dû à l'assimilation végétale pendant la période de croissance, la quantité totale d'azote dans la litière en décomposition peut aussi s'accroître de plus de 100 % par le biais de l'assimilation azotée des micro-organismes. Cette augmentation des teneurs en nutriments de la litière lors de la phase initiale de sa décomposition nécessite la mobilisation d'azote inorganique présent à proximité. Ce processus d'immobilisation peut ainsi réduire significativement les quantités d'azote et de phosphore disponibles dans le sol, et donc contribuer à une rétention à court terme des nutriments dans les zones riveraines. Étant donné que la litière est principalement produite en Automne, la rétention par l'immobilisation aura lieu durant l'Hiver alors que l'assimilation végétale est faible et que le risque de lessivage des nutriments est élevé. Ainsi, l'immobilisation peut représenter un important moyen de rétention de l'azote dans les zones humides de bas-fonds.

En termes d'hypothèse, on peut supposer que le type de végétation doit influencer les quantités d'azote assimilées ainsi que le temps de résidence des composés azotés. Le présent chapitre se propose donc d'évaluer, sur une base saisonnière, l'impact du couvert végétal des

3 sites expérimentaux sur la rétention de l'azote. Le but de cette étude est de quantifier: **l'assimilation de l'azote par la végétation, les pertes d'azote par les plantes *via* la chute et le lessivage de la litière aérienne et racinaire, la décomposition et la minéralisation/immobilisation de l'azote au sein des trois sites d'étude (Figure 1).**

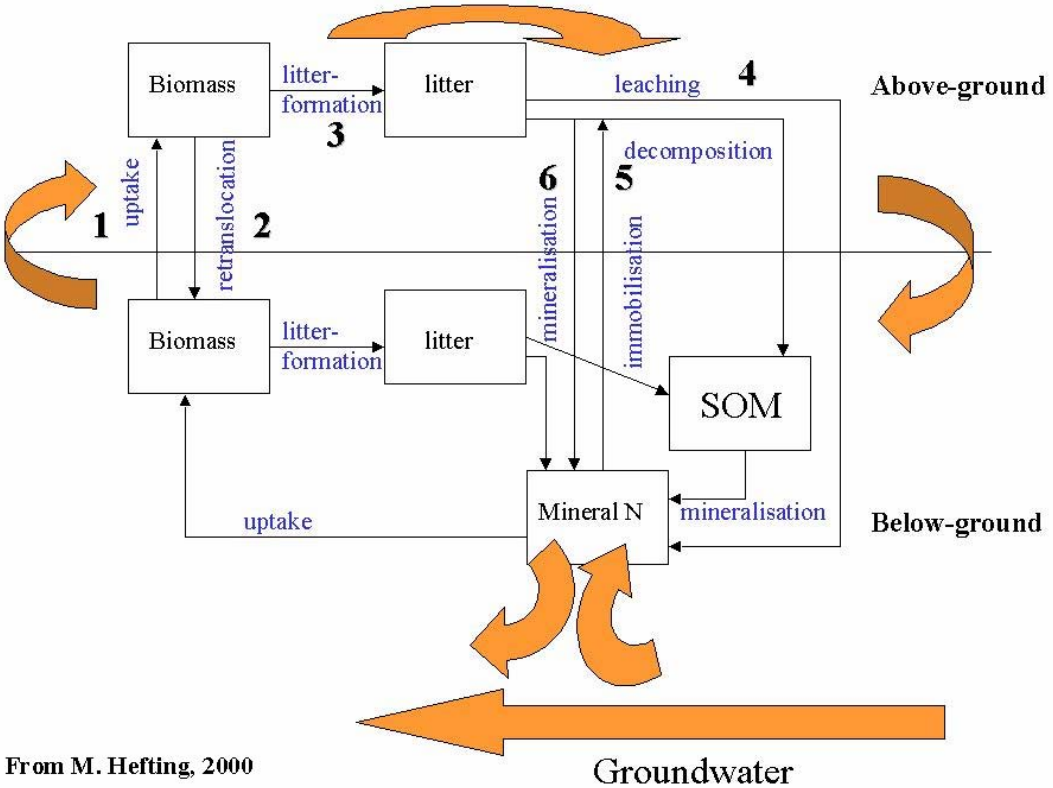


Figure 1: Schéma des flux d'azote dans les zones riveraines influencé par la végétation et la litière. 1 = Assimilation de l'azote par la végétation; 2 = Translocation; 3 = Teneurs en azote de la litière; 4 = Diffusion; 5 = Immobilisation; 6 = Minéralisation.

Ce dernier chapitre a été écrit en collaboration avec Mariet Hefting du Department of Geobiology (Section Landscape Ecology, F.A.F.C Wentgebouw, Sorbonnelaan 16, Utrecht) des Pays-Bas. Cette jeune chercheuse fait partie de l'équipe Hollandaise du Programme N.I.C.O.L.A.S. et était en charge de la création du protocole d'analyse de la végétation sur l'ensemble des sites du programme.

I – Production et Biomasse:

I - 1 – Comparaison de l'évolution de la biomasse sur les 3 sites d'étude:

Les prélèvements de biomasse dans la strate herbacée ont été séparés en biomasse vivante et biomasse morte. Il n'y pas eut de prélèvement en hiver.

En ce qui concerne la strate herbacée, la production de biomasse est nettement supérieure dans la Friche avec une masse sèche au printemps de 830 g.m^{-2}.En effet, la Forêt possède la production de biomasse herbacée la plus faible (208 g.m^{-2} en été) qui correspond au faible passage de la lumière à travers la canopée, alors que la Prairie présente des valeurs intermédiaires avec un maximum de 500 g.m^{-2} au Printemps (Figure 2).

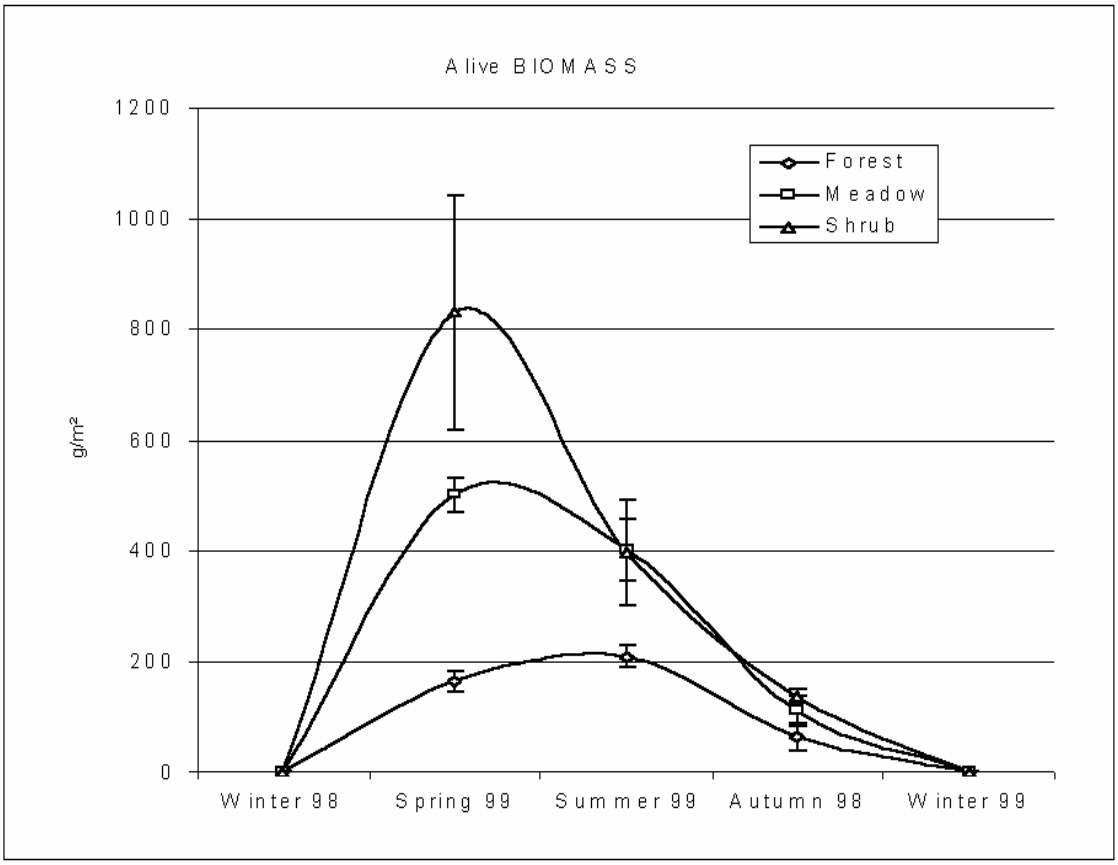


Figure 2: Évolution de la biomasse vivante sur les trois sites d'étude au cours de l'année. Moyennes des trois zones de chaque site et erreur standard.

En terme de biomasse morte, on observe le même gradient avec des quantités nettement supérieures dans la Friche (380 g.m^{-2} au printemps) et plus faibles dans la Forêt (15 g.m^{-2} en été) (il ne s'agit bien sûr que de la strate herbacée) (Figure 3).

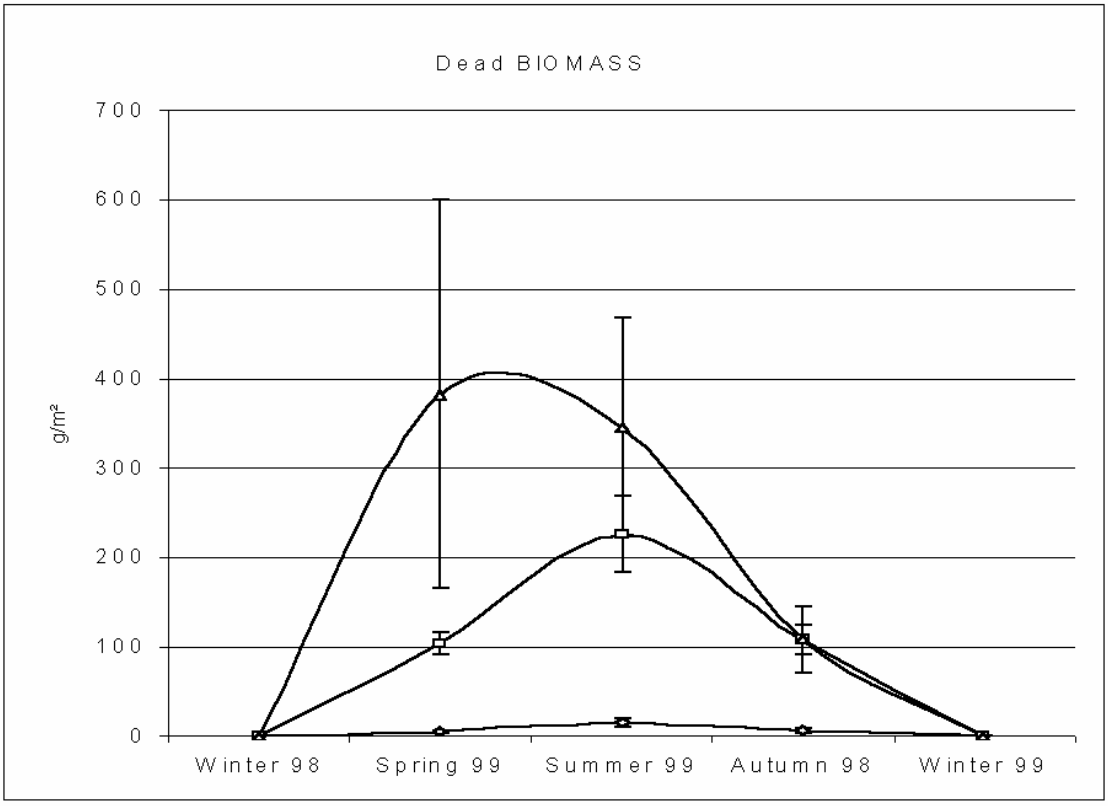


Figure 3: Évolution de la biomasse morte sur les trois sites d'étude au cours de l'année. Strate Herbacée. Moyennes des trois zones de chaque site et erreur standard.

La biomasse morte prélevée à un moment donné correspond à environ 50-80 % de la biomasse vivante du même prélèvement, excepté dans la Forêt où elle n'atteint que 10 %.

Enfin; il est important de noter la forte variabilité de la production de biomasse, vivante ou morte, au sein de la Friche. Cela est principalement le résultat d'une grande différence entre la zone en pieds de talus, très productive, avec les autres zones. Cet aspect transversal de la dynamique de la végétation et des flux d'azote qui y sont liés sera analysé plus précisément dans la suite de chapitre.

I - 2 – La Production de biomasse sur les 3 sites d'étude:

La production primaire annuelle au sein des 3 sites d'études a été calculée en utilisant les bases de calcul de Mc McClaugherty et al. (McClaugherty et al. 1982) (cf. Méthodes). Ces calculs ont été effectués pour chaque site et chaque zone. La production primaire de la Forêt inclue cette fois la strate arborescente (bois et feuillage) (Figure 3).

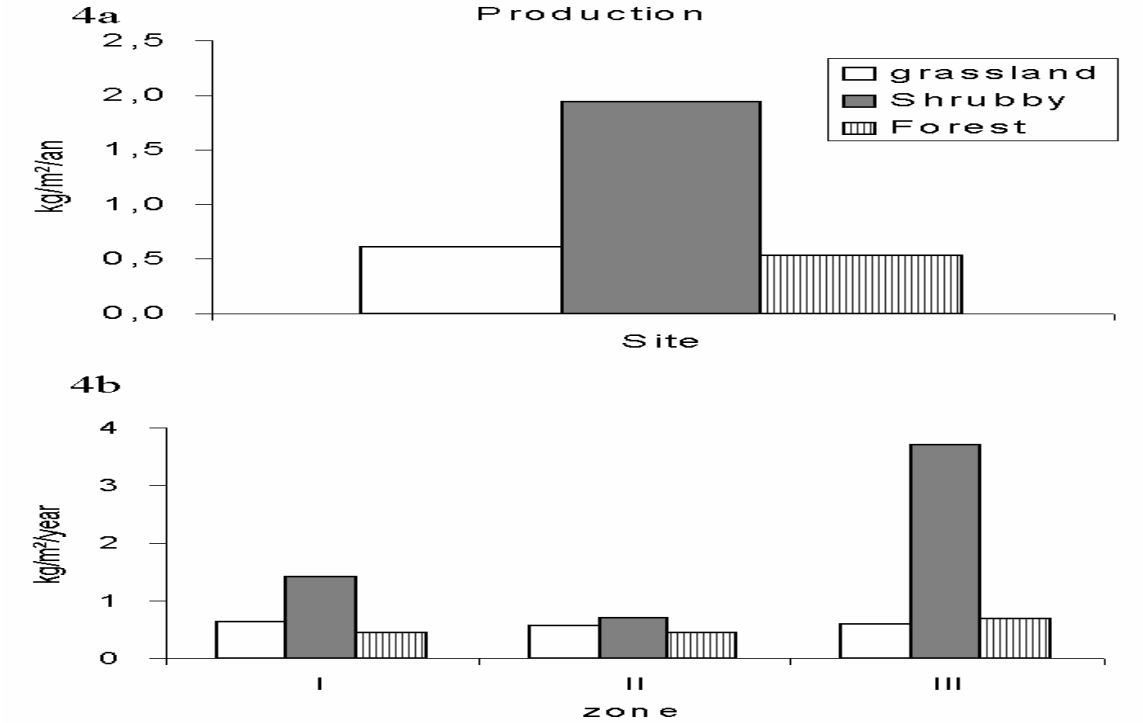


Figure 4: Production annuelle de biomasse sur les trois sites d'étude (4a) et dans chacune des zones de chaque site (4b).

A la lecture de la figure 3, il apparaît clairement que la Friche est bien le site qui présente, en moyenne sur les 3 zones, la plus forte production primaire (1.94 $kg.m^{-2}$ an^{-1}). En effet, la production primaire dans la Prairie est intermédiaire (0.6 $kg.m^{-2}$ an^{-1}), alors que la Forêt ne produit qu'environ 0.5 $kg.m^{-2}$ an^{-1} de biomasse.

Au-delà de cette différence inter-sites, on observe également de fortes disparités selon la zone observée au sein de chaque site. Ainsi, la forte production de la Friche est principalement le résultat de la zone 3 située en pied de talus (3.7 $kg.m^{-2}$ an^{-1}) et où domine un important massif de ronces (*Rubus fructicosus*). La Prairie et la Forêt sont nettement inférieures avec des productions primaires de 0.6 et 0.7 $kg.m^{-2}$ an^{-1} respectivement.

Dans la zone 2 (intermédiaire), la production de la Friche (0.7 $kg.m^{-2}$ an^{-1}) est encore une fois la plus forte mais nettement plus proche de celles des zones 2 de la Prairie et de la Forêt, qui présentent des productions primaires de 0.6 et 0.45 $kg.m^{-2}$ an^{-1} respectivement. Enfin, en ce qui concerne la zone 1, la Friche produit environ 1.4 $kg.m^{-2}$ an^{-1} de biomasse alors que la Prairie et la Forêt produisent respectivement 0.64 et 0.44 $kg.m^{-2}$ an^{-1}.

I - 3 – La Production de Litière sur les 3 sites d'étude:

La production de litière est calculée de la même façon que la production de biomasse vivante.

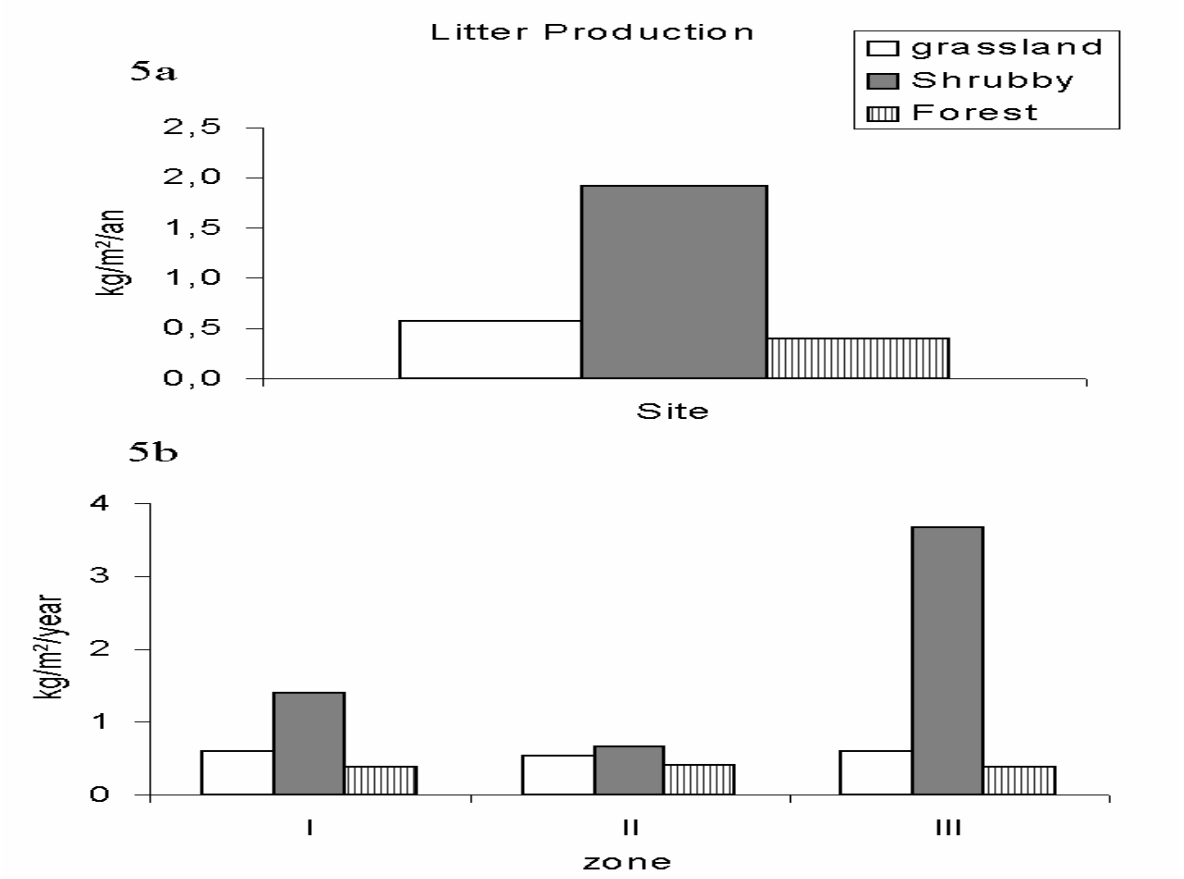


Figure 5: Production annuelle de Litière sur les trois sites d'étude (5a) et dans chacune des zones de chaque site (5b).

La production de litière reflète la hiérarchie donnée par la production de biomasse. La Friche présente la plus forte production de litière (1.9 $kg.m^{-2}$ an^{-1}); la zone 3 étant la plus productive (3.7 $kg.m^{-2}$ an^{-1}) (Figure 5). La Prairie produit environ 0.6 $kg.m^{-2}$ an^{-1} de façon assez homogène sur ses 3 zones. La Forêt présente une production annuelle de 0.4 $kg.m^{-2}$ an^{-1} de litière sans qu'une zone ne se distingue plus qu'une autre.

I - 4 – L'assimilation de l'Azote sur les 3 sites d'étude:

L'assimilation de l'azote est calculée en multipliant la production de biomasse par la teneur en azote de cette biomasse.

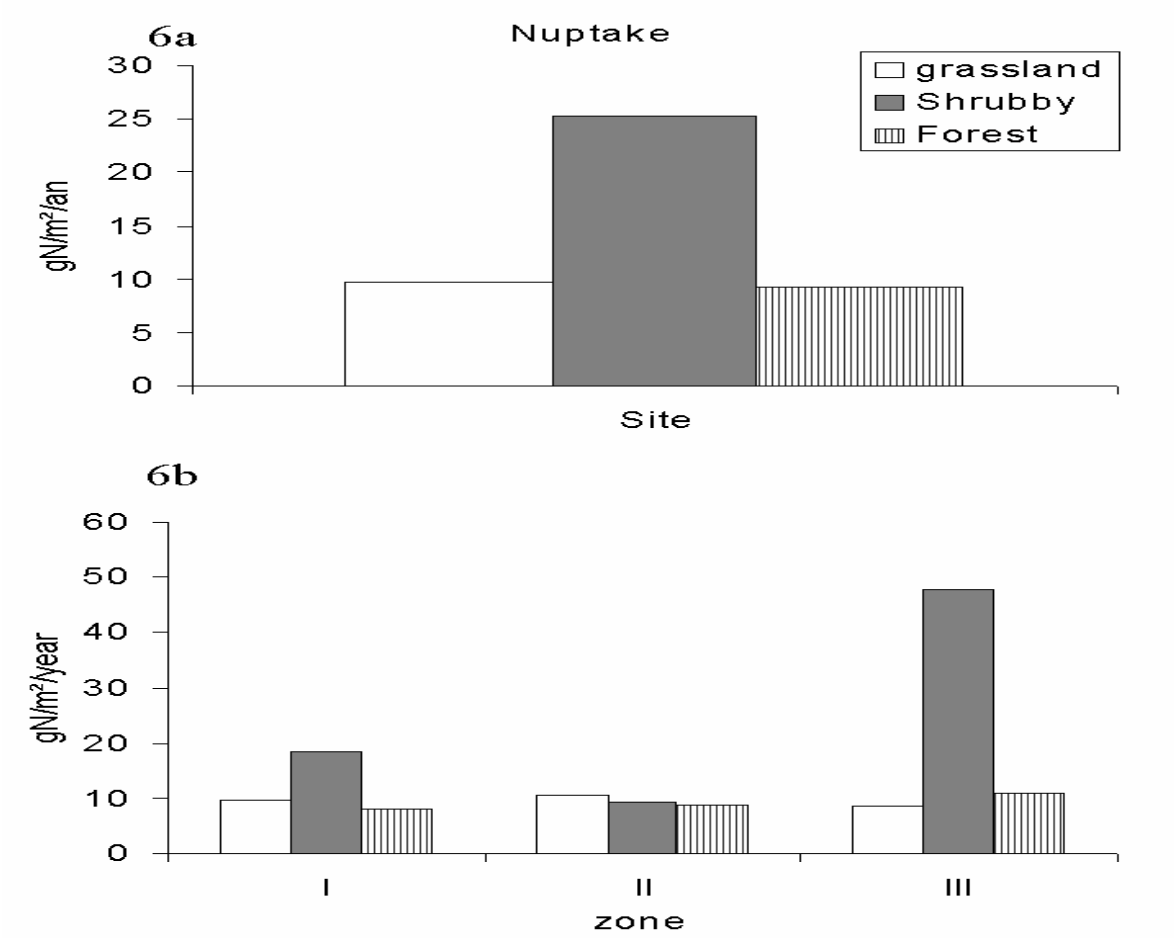


Figure 6: Taux d'assimilation de l'Azote par la végétation sur les trois sites d'étude (6a) et dans chacune des zones de chaque site (6b).

L'assimilation azotée par la végétation riveraine des 3 sites d'études est proportionnelle aux valeurs de production primaire. La Friche se distingue encore par sa zone 3 à *Ranunculus repens* qui absorbe jusqu'à 48 g N m^{-2} an^{-1}. A l'inverse, la Prairie et la Forêt présentent des taux d'absorption de l'azote par la végétation plus faibles et relativement homogènes sur l'ensemble de leurs zones (9.5 g N m^{-2} an^{-1}).

II – Translocation et Décomposition:

II - 1 – La Translocation:

La translocation a lieu à la fin de la saison de croissance végétale et consiste en la "migration" de l'azote contenu dans les tissus chlorophylliens (feuilles et tiges) vers les tissus de stockage qui sont classiquement les racines (Bowden 1987). Au printemps, les stocks d'azote sont libérés vers les nouvelles pousses en début de croissance (Mason and Bryant 1975).

La translocation est plus forte dans la Prairie (5.8 g N m^{-2} an^{-1}) et décroît selon le degré de maturité de la végétation dominante pour atteindre 4.6 g N m^{-2} an^{-1} dans la Friche et 3.0 g N m^{-2} an^{-1} dans la Forêt (Figure 7). Quels que soient le site ou la zone considérés, il ne semble pas y avoir de relation claire entre les taux de translocation et les quantités d'azote assimilé. Cette relation est principalement obscurcie par la différence de composition en terme d'espèces végétales présentent dans les sites d'études. Enfin, il apparaît que le niveau de disponibilité de l'azote le long des transects ne semble pas influencer les taux de translocation (données non reportées).

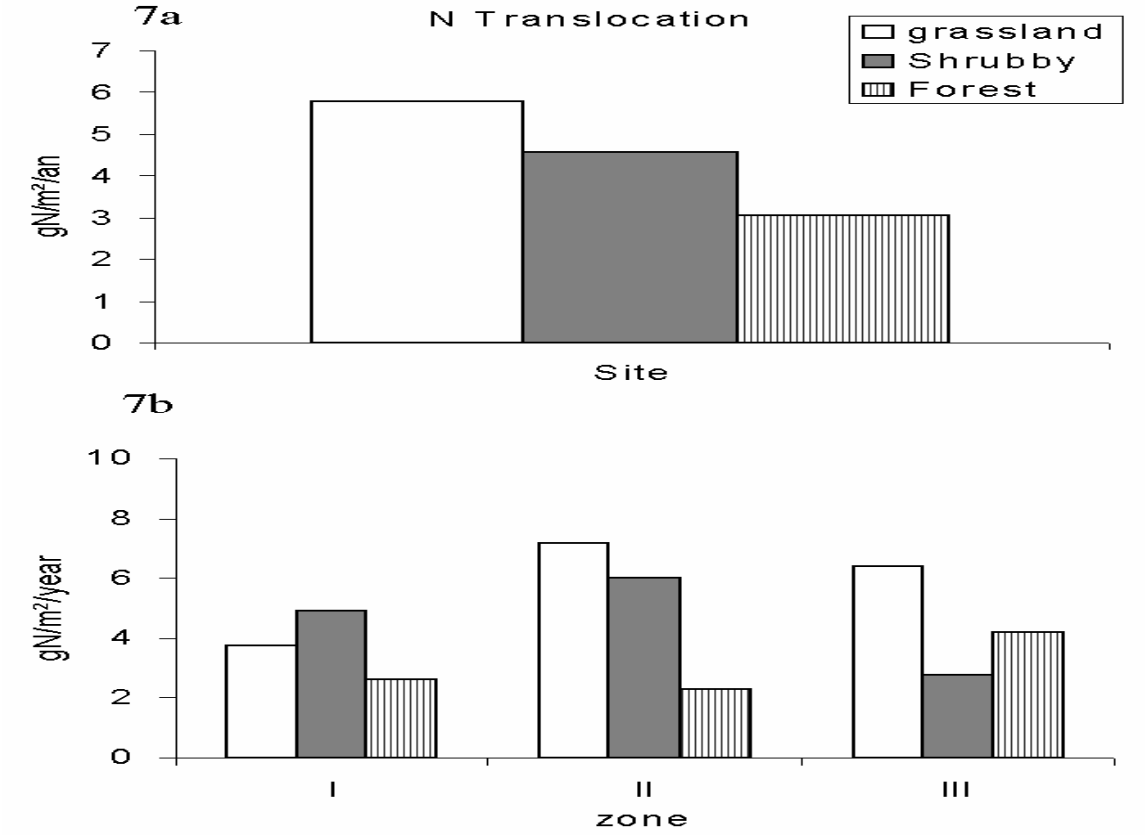


Figure 7: Taux de translocation de l'Azote par la végétation sur les trois sites d'étude (7a) et dans chacune des zones de chaque site (7b).

II – 2 – Rapports C:N de la végétation et de la litière:

Le rapport C:N de la biomasse végétale peut être utilisé comme un indicateur de la rapidité de décomposition de la litière (Bauhus et al. 1998). L'observation de ces rapports annuels C:N dans la biomasse vivante et dans la litière des 3 sites d'étude montre que de façon générale le rapport C:N est supérieur dans la litière (Figure 8), celle-ci ayant subit la translocation d'une partie des composés azotés vers les organes de réserve. Cependant, aucun effet "type de végétation" ou "zone" ne semble hiérarchiser les rapports C:N.

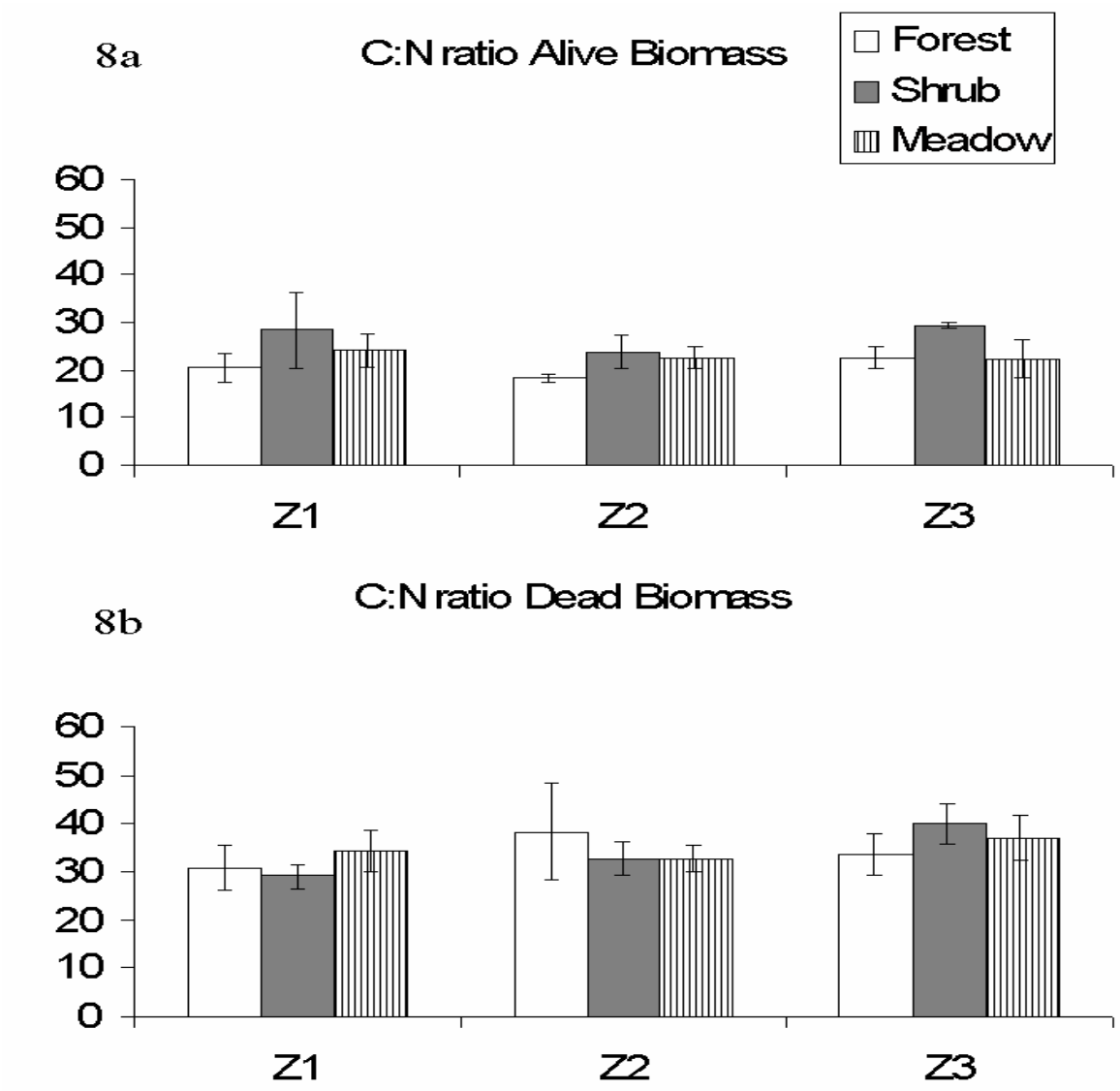


Figure 8: Rapports annuels C:N dans la biomasse vivante (8a) et dans la litière (8b) dans chaque site et dans chaque zone. Le rapport C:N de la biomasse vivante est compris entre 20.5 et 27.1 alors qu'il se situe entre 33.9 et 34.7 pour la litière.

II – 3 – La Décomposition:

A la mort des organismes, l'azote contenu dans les tissus est libéré et devient disponible pour d'autres processus. La décomposition des matières organiques comprend trois étapes qui opèrent souvent de façons rapprochées: la diffusion, l'immobilisation et la minéralisation.

La diffusion a lieu au moment de la rupture des cellules mortes qui libèrent alors leurs composés azotés organiques ou inorganiques solubilisés.

L'immobilisation consiste en l'absorption par les micro-organismes du sol de l'azote inorganique qui se retrouve alors transformé en azote organique. Ainsi, une colonisation par des micro-organismes qui absorbent l'azote inorganique peut résulter en un accroissement net de l'azote immobilisé. Enfin, une autre immobilisation peut se faire par conversion en composés organiques tel que l'humus. Les végétaux supérieurs prélèvent dans la solution du sol l'azote minéral sous forme de nitrates (NO_3^-) alors que les micro-organismes utilisent préférentiellement l'azote minéral sous forme d'ammoniaque (NH_4^+). A la mort de ces végétaux ou de ces micro-organismes, l'azote prélevée se retrouve dans le sol sous formes organiques (acides aminés, peptides, molécules complexes...) qui sont alors recyclées par l'ammonification.

La minéralisation, ou ammonification, permet la transformation de composés organiques azotés en ammoniaque (NH_4^+) (Mitsch and Gosselink 1993, Seitzinger 1994). Elle est sous la dépendance du cycle du carbone au travers du métabolisme des micro-organismes hétérotrophes (McGill and Christie 1983). Cependant le carbone est perdu par le système *via* la respiration alors que l'azote est conservé (Bowden 1987). La minéralisation est catalysée par différentes enzymes présentes dans les cellules de micro-organismes, dans les cellules mortes ou directement dans la solution du sol. L'ammonification a lieu de façon identique en conditions aérobies et anaérobies. Elle est optimale à pH neutre mais toujours active dans les sols acides ou alcalins. Des taux de minéralisation ont été mesurés et vont de 4 à 57.6 mg N m^{-2} $jour^{-1}$ (Oorschot 1994, Verhoeven et al. 1994). Enfin, il est important de distinguer la minéralisation nette de la minéralisation totale, la minéralisation nette correspondant à l'azote minéralisé qui n'est pas immobilisé (Bowden 1987).

Le suivi des teneurs en azote de la litière prélevée et placée dans des sacs à décomposition dans chaque site d'étude permet de décrire ces différentes étapes ainsi que leurs variations selon le site ou la zone où les sacs sont situés. Les sacs ont été placés sur les sites en Novembre 1998.

Dans un premier temps, la diffusion de l'azote se manifeste principalement dans la Friche où elle est d'autant plus forte que la litière se trouve dans une zone proche du talus (Figure 9). En ce qui concerne la Prairie et la Forêt, la diffusion à surtout lieu dans la zone 3, alors qu'elle est très faible voire inexistante dans les autres zones si on la rapporte à la quantité de litière produite dans ces mêmes zones (Figure 11). En effet, la phase d'immobilisation est immédiate dans la zone 2 de la Prairie, alors qu'elle est plus tardive dans les zones 1 et 2 de la Forêt, et la zone 3 de la Friche. Par ailleurs, les plus forts taux d'immobilisation sont mesurés dans la Friche (zones 1 et 2) (Figures 8). Cependant, ces mêmes taux, rapportés aux quantités de litière produites dans chaque zone, laissent apparaître des taux d'immobilisation de l'azote plus importants dans les zones 1 et 3 de la Friche (Figure 11).

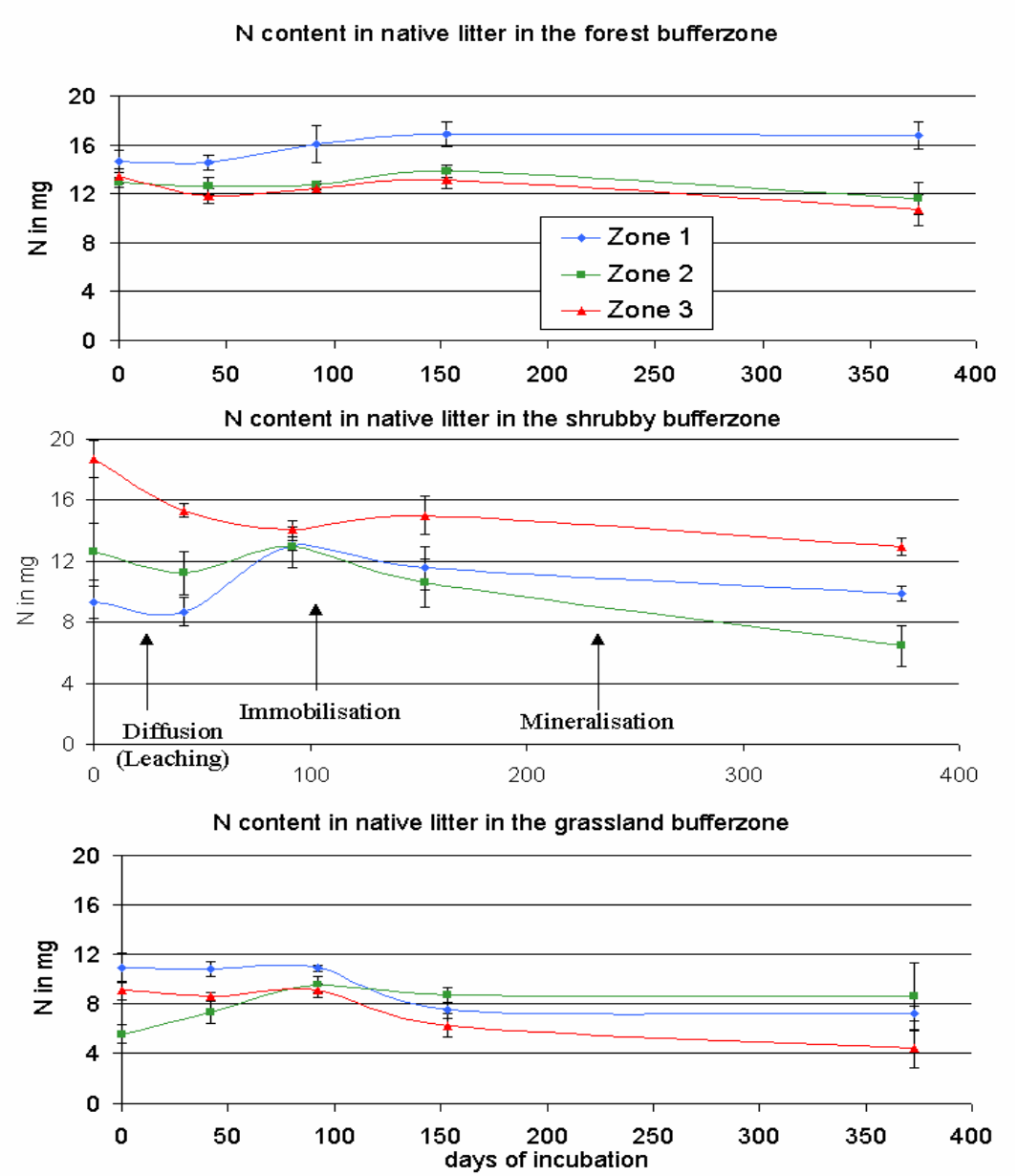


Figure 9: Décomposition de l'Azote sur les trois sites d'étude et dans chacune des zones de chaque site. D'après Hefting, 2000.

Lors de la décomposition de la litière le rapport C:N tend à évoluer en raison de l'activité de dégradation des bactéries (Figure 10). Il diminue rapidement durant les 100 premiers jours de décomposition (de Novembre 1998 à Février 1999) puis il reste relativement stable. La diminution du rapport C:N semble suivre le gradient d'hydromorphie dans la Friche, alors qu'elle est identique pour les zones des autres sites d'étude excepté la zone 2 de la Prairie.

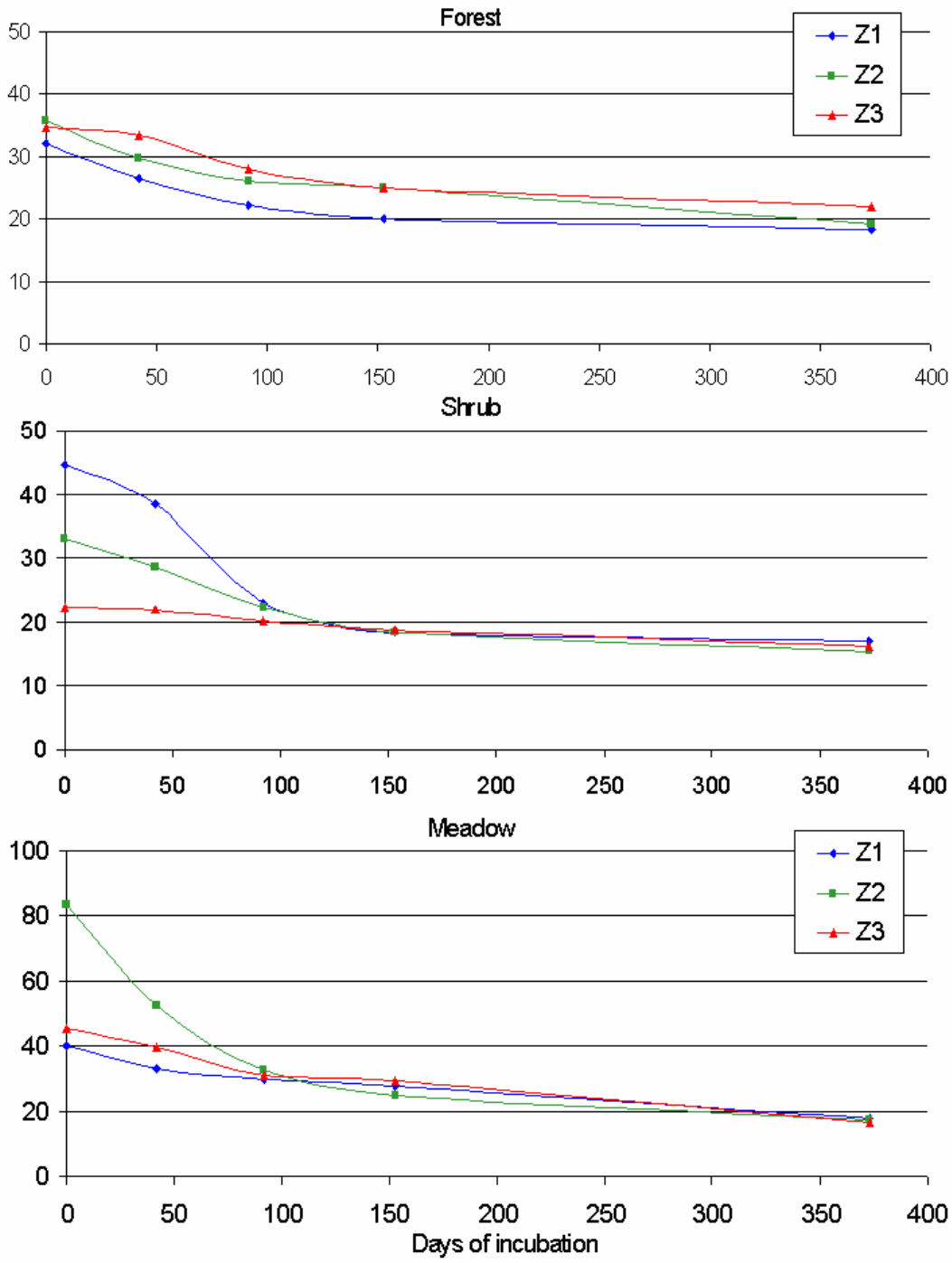


Figure 10: Évolution du rapport C:N de la litière lors de la décomposition.

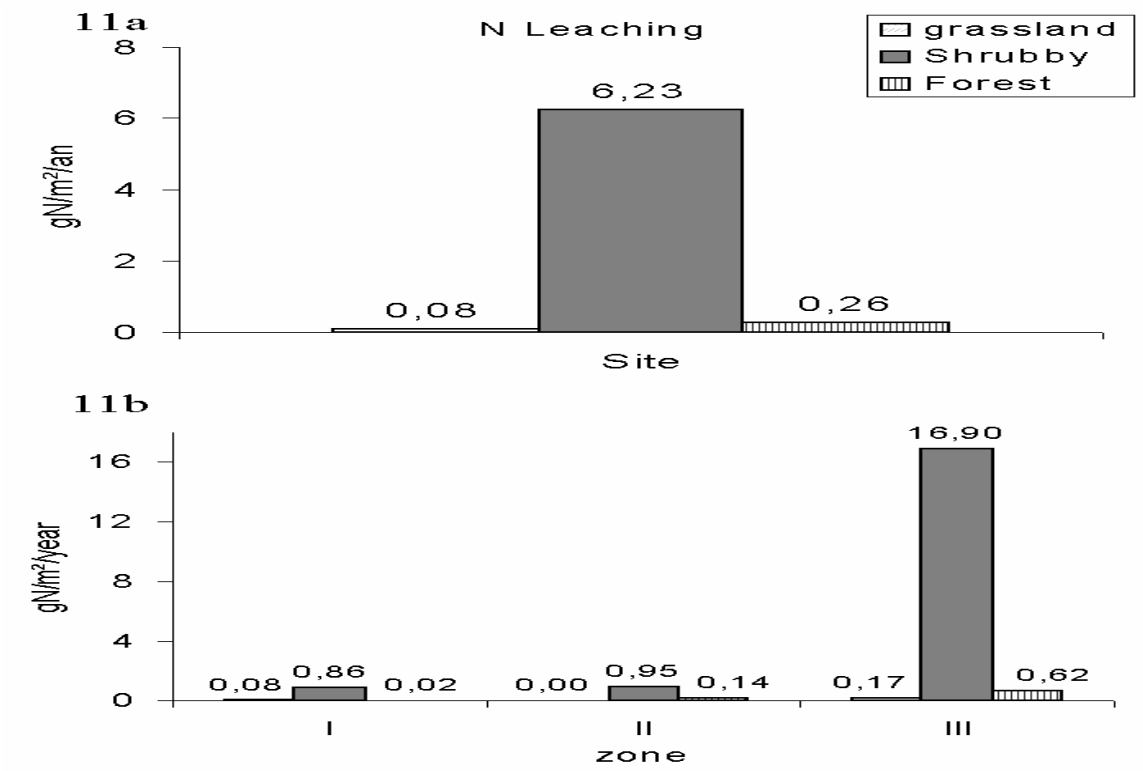


Figure 11: Taux annuels de diffusion de l'Azote sur les trois sites d'étude (11a) et dans chacune des zones de chaque site (11b).

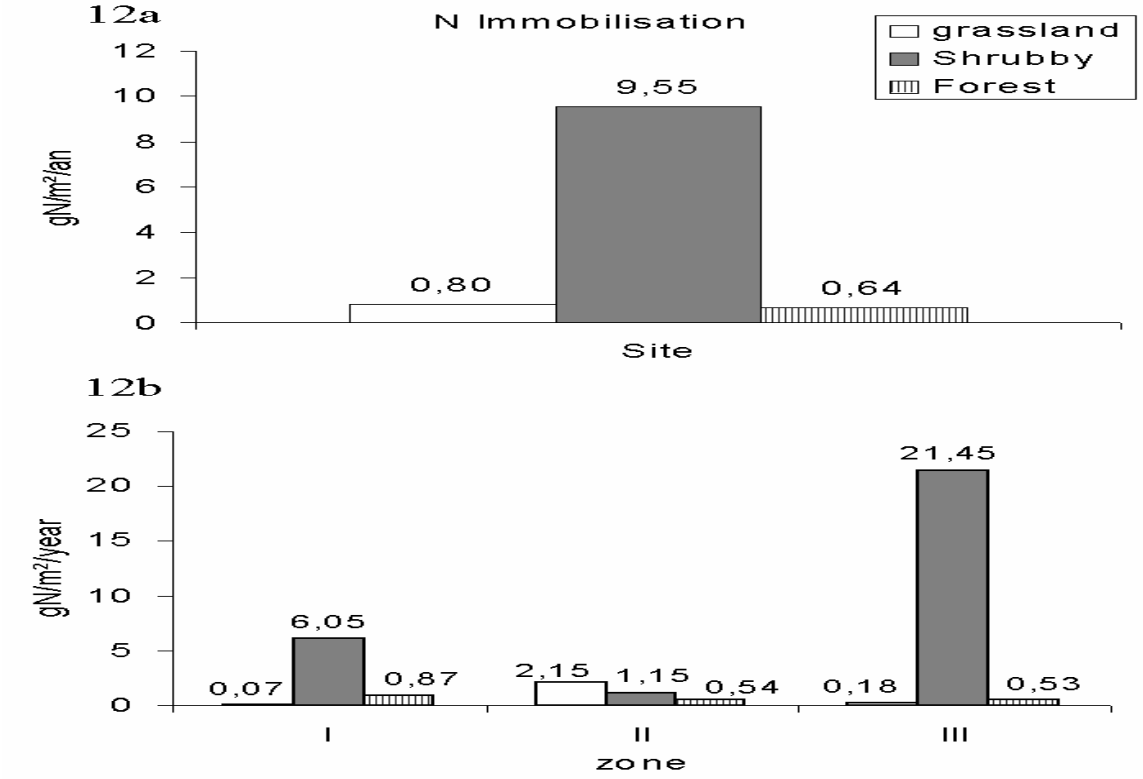


Figure 12: Taux annuels d'immobilisation de l'Azote sur les trois sites d'étude (12a) et dans chacune des zones de chaque site (12b).

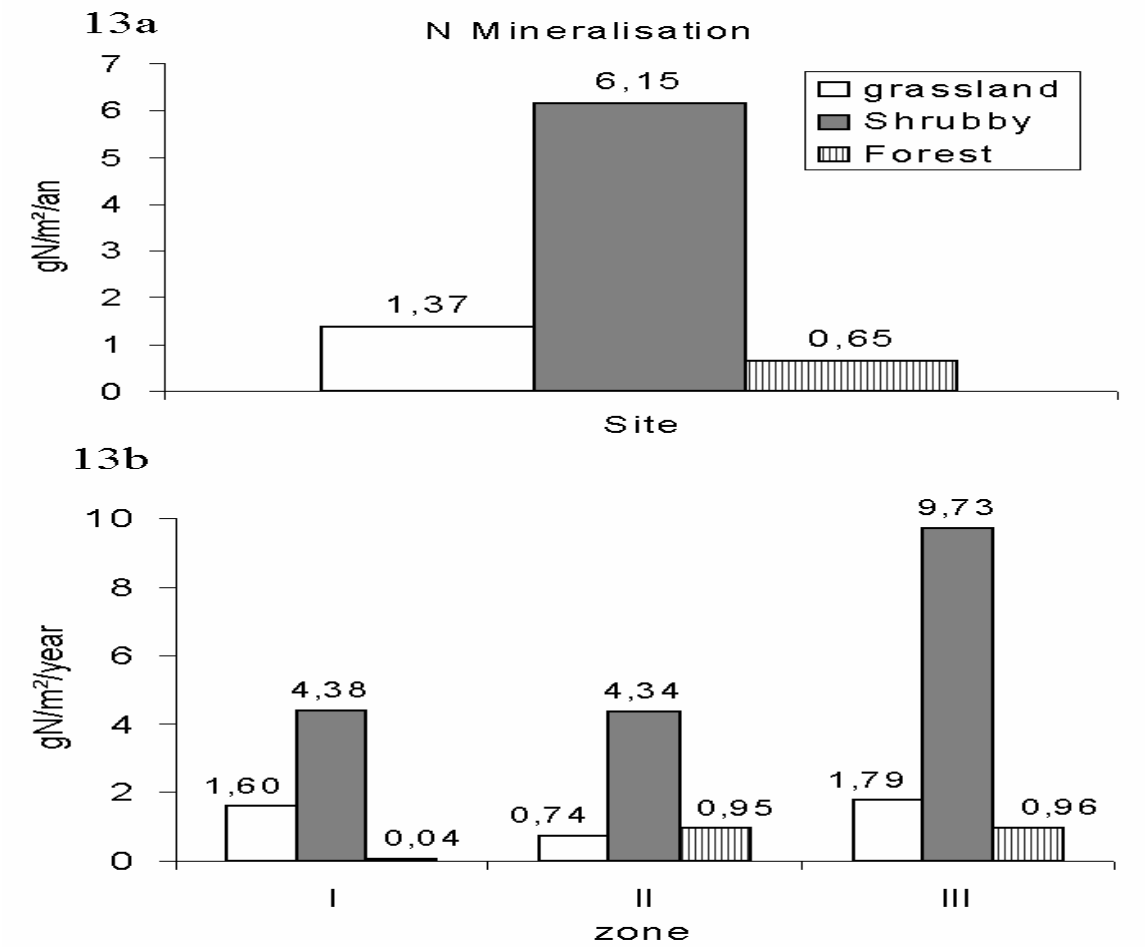


Figure 13: Taux annuels de minéralisation de l'Azote sur les trois sites d'étude (13a) et dans chacune des zones de chaque site (13b).

Le dernier stade de la décomposition des composés azotés contenus dans la litière est la minéralisation. Le taux de ce processus de la décomposition est inversement corrélé au gradient d'hydromorphie (pente des courbes de décomposition entre 150 et 400 jours, Figure 9). Il est plus faible en zone 1 et plus fort en zone 3. En ce qui concerne le type de végétation, il semble que la litière de la Forêt soit plus lente à minéraliser que dans la Prairie ou la Friche. Le même gradient est mis en évidence lorsque l'on se rapporte aux quantités d'azote minéralisé par an dans chaque site (Figure 13). En effet, la Friche présente les plus forts taux de minéralisation qui diminuent le long du transect (Figure 13a), alors que les plus faibles quantités d'azote minéralisé sont observées dans la Forêt qui présente le même gradient de la zone 3 vers la zone 1. La Prairie présente des taux intermédiaires de minéralisation mais sans que l'on observe de gradient le long des zones (Figure 13b).

III – Décomposition des racines:

La décomposition des tissus racinaires n'a été étudiée qu'au travers de l'étude comparative du protocole de recherche du programme NICOLAS. Des sacs à décomposition contenant des racines mortes (*Urtica dioica*), prélevées en Hollande, ont été placés dans la zone 2 de la Prairie. L'objectif était de suivre la dynamique des nutriments au cours de la décomposition, et ce, sans interférence due à des litières racinaires de qualité différente selon les pays d'étude. Pour tous les pays d'étude y compris notre site, la teneur en azote de la litière racinaire diminue rapidement durant les premiers mois d'incubation (Figure 14). Dans le site de Pleine-Fougères, la libération de l'azote contenu dans les tissus racinaires morts se fait assez rapidement: 30 % après 6 semaines, 45% après 3 mois et 57 % après 6 mois.

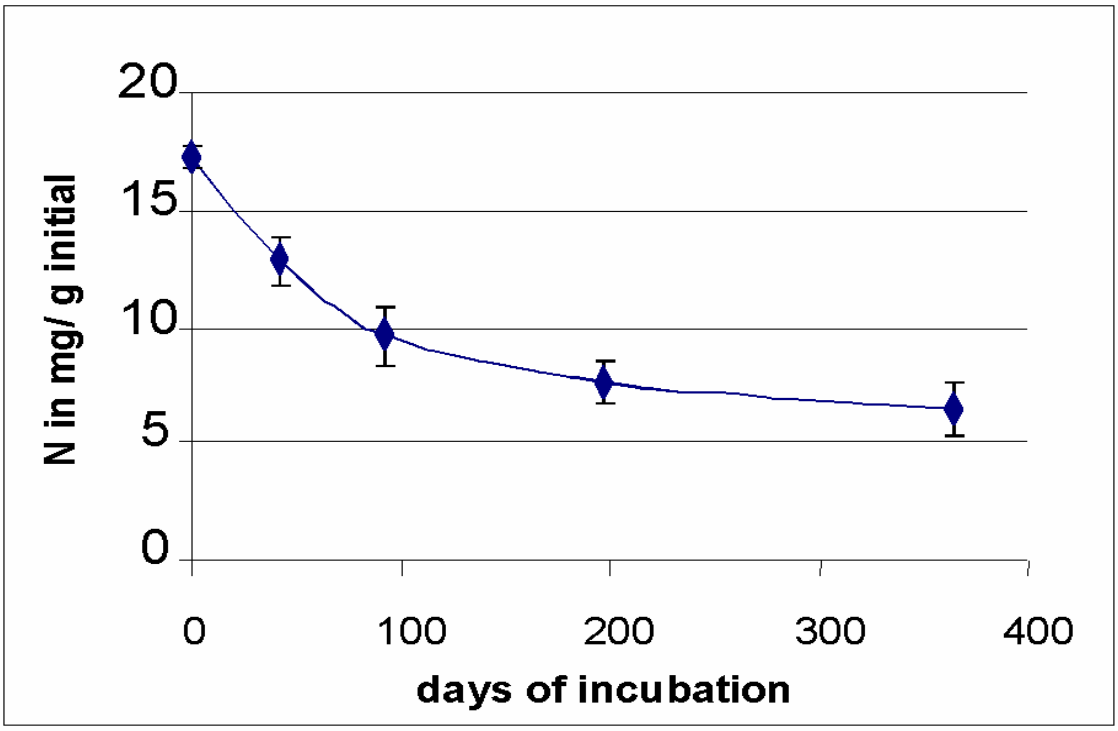


Figure 14: Évolution de la teneur en azote lors de la décomposition de la litière racinaire de référence dans la zone 2 de la Prairie. D'après Hefting, 2000.

L'utilisation des bandes en coton permet de distinguer l'influence de facteurs environnementaux et de la qualité de la litière sur les taux de décomposition. La perte de force de tension des bandes en coton (CSTSL), insérées à l'emplacement des sacs à décomposition racinaire, montre une nette diminution de l'activité cellulosique avec la profondeur (Figure 15).

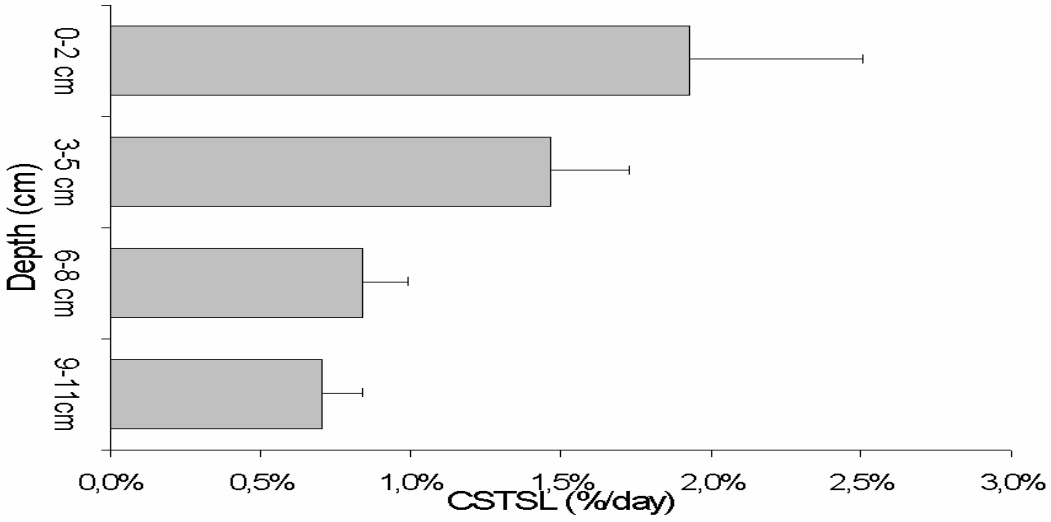


Figure 15: Perte de la force de tension des bandes en coton (CTSL° en fonction de la profondeur d'insertion.

Les plus forts taux de décomposition se trouvent dans les 2 premiers centimètres du sol, résultat que l'on retrouve dans tous les pays d'étude du programme NICOLAS. Cette diminution peut s'expliquer par une baisse du pH ou des teneurs en oxygène avec la profondeur. La vitesse de décomposition en profondeur est quoiqu'il en soit plus lente qu'en surface.

DISCUSSION

Globalement, il semble que la Friche se distingue nettement des deux autres sites d'étude par la quantité de biomasse produite dans l'année (Figure 2), ainsi que par la quantité d'azote absorbé par cette végétation (Figure 4). En effet, la moyenne d'absorption de la Friche (25 g N m^{-2} an^{-1}) correspond à ce que l'on peut trouver dans des zones humides naturelles à Phragmites très productives (Oorschot 1994), des taux maximums de 120 g N m^{-2} an^{-1} ayant été mesurés pour des Phragmitaies riveraines artificielles. Toutefois, ce constat est essentiellement dû à la seule zone 3 de la Friche (Figure 2 & 4). En effet, la végétation de cette zone, dominée par *Ranunculus repens*, est caractérisée par une croissance exubérante qui semble coïncider avec les fortes entrées en nutriments enregistrées dans l'eau de nappe. Les couvertures végétales des zones 3 de la Forêt et de la Prairie, pourtant elles aussi en contact avec de fortes entrées, ne présentent pas cette croissance. Leurs taux d'absorption de l'azote sont plus faibles (9.5 g N m^{-2} an^{-1}), mais néanmoins caractéristiques des zones riveraines naturelles eutrophes. L'absence de relation directe entre le niveau d'entrée d'azote et l'assimilation végétale peut être expliquée par une limitation de croissance par d'autres macronutriments (P, K), par la faible luminosité (strate herbacée de la Forêt) ou par des épisodes de crues plus marqués (Casanova and Brock 2000). Une autre hypothèse possible est que l'azote qui entre dans la zone riveraine est plus efficacement pris en charge par des processus du sol tels que la dénitrification ou l'immobilisation bactérienne. Enfin, le rapport C:N relativement élevé de la litière (de 33.9 à 34.7) peut laisser présager que les bactéries, qui sont généralement de plus faibles rapport C:N (~ 5:1), ne libèrent pas immédiatement l'azote inorganique provenant de la décomposition, réduisant ainsi sa disponibilité pour les plantes (Killham 1994, Hodge et al. 2000) (Figure 8).

Quoiqu'il en soit, étant donné qu'aucun prélèvement de biomasse, par fauche ou par pâturage, n'est effectué sur les sites d'étude, 75 à 90 % de la biomasse produite annuellement retourne au sol sous forme de litière (Figure 3 et 5). L'azote assimilé (Figure 6) est donc temporairement stocké puis à nouveau libéré *via* la chute de la litière (Figure 5). Cependant, d'autre paramètres entrent en jeu et modifient la disponibilité de l'azote dans chacun des sites d'étude.

En premier lieu, la translocation influence la quantité d'azote qui retourne réellement au sol (Figure 7). Le taux de translocation de l'azote semble suivre le niveau de maturité de la végétation reflété par la composition spécifique de chaque site. A l'inverse, le gradient d'hydromorphie, allant du pied de talus (zone 3) vers le cours d'eau (zone 1), ne semble pas représenter une variable explicative pertinente du niveau de translocation, du moins à l'échelle de chaque site (Figure 7).

En termes de rétention, la translocation permet à la Prairie de conserver 59 % de l'azote prélevé dans l'année dans ses tissus de stockage, alors que 41 % retournent au sol sous forme de litière (Tableau 1). Grâce à la translocation, la Friche conserve 18 % de l'azote prélevé dans l'année, et laisse 82 % de ce même azote retourner au sol. Enfin, la Forêt retient 33% de l'azote prélevé dans l'année contre 66% qui retournent au sol. La répartition le long des transects de ce stockage de l'azote par la translocation ne semble pas révéler une influence nette du gradient d'hydromorphie (Tableau 1). En effet, alors que la Prairie présente une diminution significative de la translocation de la zone 3 vers la zone 1, la Friche montre plutôt une augmentation de ce processus suivant le même gradient, alors que la Forêt ne présente pas d'évolution nette du pourcentage de translocation de l'azote assimilé dans l'année.

Tableau 1: Niveau de transfert d'azote par la translocation et la production de litière en pourcentage par rapport à l'azote assimilé annuellement par la végétation dans chaque site et chaque zone.

Sites	Zones	Translocation %	Litière %
Forêt	3	40	60
	2	26	74
	1	32	68
	Moyenne	**33**	**66**
Friche	3	6	94
	2	21	79
	1	27	73
	Moyenne	**18**	**82**
Prairie	3	75	25
	2	67	33
	1	38	62
	Moyenne	**60**	**40**

Quelques soient les quantités d'azote qui retournent au sol *via* la production de litière, la vitesse de libération de l'azote contenu dans les tissus chlorophylliens de la litière est dépendante du processus de décomposition (Diffusion, Immobilisation et Minéralisation). Ce sont ces processus qui vont jouer sur la quantité d'azote réellement libéré au niveau du sol, et plus ou moins influencer le temps de résidence de l'azote assimilé par la végétation.

L'évolution du rapport C:N lors de la décomposition montre que pour l'ensemble des sites d'étude il atteint 25:1 environ 100 à 150 jours après la chute de la litière (Figure 10). D'après Elliot *et al.* (Elliot and al. 1981), la minéralisation nette pourra alors avoir lieu. L'azote libéré par la chute de la litière est donc d'abord bloqué pendant environ 100 à 150 jours par l'immobilisation ou par le rapport C:N de la litière, avant d'être réellement libéré sous forme inorganique dans le sol. Cette libération par la minéralisation est d'ailleurs relativement lente pour les trois sites d'étude (Figure 9).

On observe néanmoins que les taux de décomposition sont significativement supérieurs dans les 2 sites à strate herbacée majoritaire (Prairie et Friche) en comparaison au site forestier ($p=0.01$). Cela est probablement dû à la présence plus importante de lignine dans la litière de la Forêt. La teneur initiale en azote est supérieure dans la litière de la forêt (Figure 9), ce n'est donc pas cet aspect de la qualité de la litière qui peut expliquer les différences de taux de décomposition. En ce qui concerne le degré d'hydromorphie, à nouveau il ne semble pas y avoir de relation claire entre les taux d'immobilisation mesurés et la position par rapport au talus de ceinture (Figure 9. Cependant, certaines zones contribuent clairement à la rétention de l'azote en hiver *via* l'immobilisation (zone 1 de la Prairie, zones 1 et 2 de la Friche…). Dans ces cas, on n'observe pas ou peu de diffusion de l'azote juste après le début de l'incubation, mais une immobilisation nette avec des niveaux qui atteignent 140 et 170 % de la quantité initiale d'azote dans la litière (Figure 9). Les taux maximums d'immobilisation se situent après 3 mois d'incubation, ce qui coïncide avec la période hivernale lorsque l'assimilation de l'azote par les plantes est négligeable. La phase de minéralisation a lieu 6 mois après le début de l'incubation, ce qui correspond au printemps, c'est-à-dire lorsque le prélèvement de l'azote par les plantes est important. On peut donc en conclure que l'immobilisation de l'azote lors de la décomposition de la litière aérienne est un important processus de la rétention d'azote pendant l'hiver.

Concernant la litière racinaire, aucun phénomène d'immobilisation n'a été observée lors de sa décomposition et ce dans aucun des pays (Figure 14). Aux vues de la diversité des sites d'étude du programme NICOLAS, on peut supposer que cette tendance est extrapolable aux autres types de couvertures végétales. Il semble donc que la litière racinaire n'est pas importante dans la rétention d'azote *via* le processus d'immobilisation. L'utilisation des bandes de coton a permis d'avoir une idée de la façon dont le système racinaire est décomposé (Figure 14). Cependant, il est clair que les tissus racinaires représentent un système hautement

dynamique avec la formation de nouvelles racines, la mort de vieilles racines et leur décomposition. Tous ces processus se déroulant tout au long de l'année en fonction de la disponibilité des nutriments, du climat et des épisodes de crues principalement. D'après Killham (Killham 1994), les racines et la rhizosphère occupent environ 1 % du volume du sol dans lequel une grande partie du cycle des nutriments du sol a lieu. En forêt, 30 à 90 % des petites racines sont remplacées tous les ans, et ce turn-over racinaire peut représenter plusieurs milliers de kilogrammes par hectare de forêt (Fogel 1985). Le turn-over du système racinaire peut être déterminé par la nature des espèces végétales, mais les facteurs environnementaux sont au moins aussi importants. Ainsi, dans un sol riche en nutriments le turn-over sera plus lent que dans un sol pauvre. Dans cette situation, les racines auront en effet tendance à être plus ramifiées et plus denses pour exploiter le plus grand volume de sol possible (Hodge et al. 2000).

Pour en revenir à la biomasse aérienne, la libération de l'azote prélevé dans l'année par la végétation riveraine peut être calculée comme étant le résultat net de la diffusion, de l'immobilisation et de la minéralisation par rapport à la quantité d'azote qui retourne au sol par la litière (Tableau 2).

La Forêt ne libère réellement dans l'année que 4.5 % de l'azote contenu dans la litière, cette faible valeur est essentiellement le résultat d'une décomposition lente en générale et d'une minéralisation réduite en particulier. Dans la Friche, 13.7 % de l'azote de la litière est libéré dans l'année, cela étant principalement due à une forte immobilisation de l'azote. Enfin, la Prairie libère dans l'année 16.5 % de l'azote contenu dans la litière grâce à une minéralisation suffisante au regard de la quantité d'azote contenue dans la litière.

En termes d'azote retenu directement ou indirectement par la végétation, c'est-à-dire par la translocation et l'immobilisation, la végétation de la Prairie permet de retenir 68 % de l'azote assimilé dans l'année, alors que la Friche et la Forêt retiennent 42 et 40 % respectivement.

Tableau 2: Taux moyens des différents processus en g N m^{-2} an^{-1} jouant un rôle dans la rétention de l'azote dans les sites d'étude, les différentes zones de chaque site sont regroupées.

Végétation	Assimilation 1	Translocation 2	N Litière 3	Diffusion 4	Immobilisation 5	Minéralisation 6	% N libéré par la litière Dans la première année ((6+4)-5)/3*100 (%)
Forêt	9.07	3.03	6.04	0.26	0.64	0.65	4.5
Friche	25.20	4.57	20.63	6.23	9.55	6.15	13.7
Prairie	9.71	5.78	3.93	0.08	0.80	1.37	16.5

En résumé, l'azote prélevé par la végétation riveraine reste plus longtemps dans la Forêt et est plus rapidement remis en circulation dans la Friche et Prairie. Le turn-over de l'azote semble donc d'autant plus rapide que la végétation dominante est jeune.

En terme quantitatif, il est clair que les plus grandes quantités d'azote sont prises en charge par la végétation de la Friche (252 kg N ha^{-1} an^{-1} en moyenne, avec un maximum de 480 kg N ha^{-1} an^{-1} dans la zone 3), alors que la Prairie et la Forêt font jeu égal avec 97 et 91 kg N ha^{-1} an^{-1}.

Enfin, la translocation et l'immobilisation permettent aux trois sites de bloquer sur place une partie de l'azote assimilé par la végétation pendant la période de croissance, soit 141 kg N ha^{-1} an^{-1} dans la Friche, 37 kg N ha^{-1} an^{-1} dans la Forêt et 66 kg N ha^{-1} an^{-1} dans la Prairie.

Le gradient d'hydromorphie, définit par les 3 zones d'étude de chaque site, ne semble pas ressortir des analyses précédentes, une tentative d'évaluation des différences entre chaque zone peut néanmoins être tentée en regroupant les 3 sites (Tableau 3). La zone 3 est clairement la zone où le taux de prise en charge de l'azote par la végétation est le plus fort (224 kg N ha^{-1} an^{-1}). Le retour au sol par la litière y est important (74 %), et la décomposition se caractérise par une forte diffusion et d'importants taux d'immobilisation et de minéralisation. Au final, 16 % de l'azote de la litière retourne au sol dans l'année. La zone 3 est certainement une zone de première importance en terme de prise en charge des nutriments arrivant par la nappe de subsurface, il s'agit effectivement de la zone d'interface entre les terres agricoles et la zone humide qui reçoit une eau chargée en azote.

En ce qui concerne la zone 2, la quantité d'azote assimilée par la végétation est plus faible et peut correspondre à une plus forte compétition avec les micro-organismes du sol consécutif à la diminution des teneurs en azote de la nappe, la translocation y est d'ailleurs plus importante et l'azote perdue *via* la litière en faible quantité. La décomposition se caractérise par une forte minéralisation qui explique que 100 % de l'azote contenu dans la litière est libéré dans l'année.

Enfin, la zone 1 présente une assimilation de l'azote supérieure à la zone 2 qui peut s'expliquer par l'utilisation de nutriments autochtones, les nitrates allochtones ayant été éliminés par la dénitrification. De ce fait, la majorité de l'azote prélevé retourne au sol *via* la litière et est à nouveau utilisé par la végétation. Cependant, la décomposition semble lente et caractérisée par une forte immobilisation qui égale les quantités d'azote diffusées et minéralisées.

Tableau 3: Taux moyens des différents processus en g N m^{-2} an^{-1} jouant un rôle dans la rétention de l'azote dans les 3 zones, les différents sites d'étude sont regroupés.

Végétation	Assimilation 1	Translocation 2	N Litière 3	Diffusion 4	Immobilisation 5	Minéralisation 6	% N libéré par la litière Dans la première année ((6+4)-5)/3*100 (%)
Zone 3	22.43	4.47	16.63	5.90	7.39	4.16	16
Zone 2	9.6	5.15	0.62	0.36	1.28	2.01	175
Zone 1	12.09	3.76	10.7	0.32	2.33	2.01	50

Enfin, la translocation et l'immobilisation dans les 3 zones bloquent une partie de l'azote assimilé par la végétation, soit 119 kg N ha^{-1} an^{-1} dans la zone 3, 64 kg N ha^{-1} an^{-1} dans la zone 2 et 61 kg N ha^{-1} an^{-1} dans la zone 1.

CONCLUSION

Le rôle de la végétation riveraine dans la régulation des flux d'azote provenant du bassin versant agricole semble pouvoir se définir en plusieurs étapes.

Pour l'ensemble des 3 sites expérimentaux, la végétation permet tout d'abord de stocker, lors de sa période de croissance, des quantités significatives d'azote. La production primaire sur l'ensemble des 3 sites d'étude est en effet relativement élevée (9800 kg de matière sèche ha^{-1} an^{-1}, soit 150 kg N ha^{-1} an^{-1}) et permet donc de limiter les pollutions diffuses au printemps; la nappe de subsurface étant encore suffisamment élevée par rapport à la profondeur du système racinaire (Figure 16). A titre de comparaison, le maïs cultivé intensivement peut produire jusqu'à 10 t ha^{-1} de matière sèche, une pairie fauchée ou pâturée produit de 5 à 14 t ha^{-1} et une culture de blé peut atteindre 10.5 t ha^{-1} (grain et paille).

Lors de la sénescence des tissus chlorophylliens, une partie non négligeable de l'azote prélevé pendant la période de croissance est conservée dans les tissus de stockage des plantes *via* la translocation (44 kg N ha^{-1} an^{-1}) (Figure 16).

La litière subit ensuite la décomposition avec en premier lieu une libération immédiate d'azote par diffusion (22 kg N ha^{-1} an^{-1}), puis une immobilisation (37 kg N ha^{-1} an^{-1}) par les bactéries qui mobilisent aussi l'azote inorganique situé à proximité afin de compenser le rapport C:N encore élevé de la litière. Enfin, la minéralisation est lente (27 kg N ha^{-1} an^{-1}) et libère progressivement l'azote sous forme inorganique, ce qui laisse la possibilité à la dénitrification de l'éliminer ou bien d'être repris à nouveau par la végétation (Figure 16).

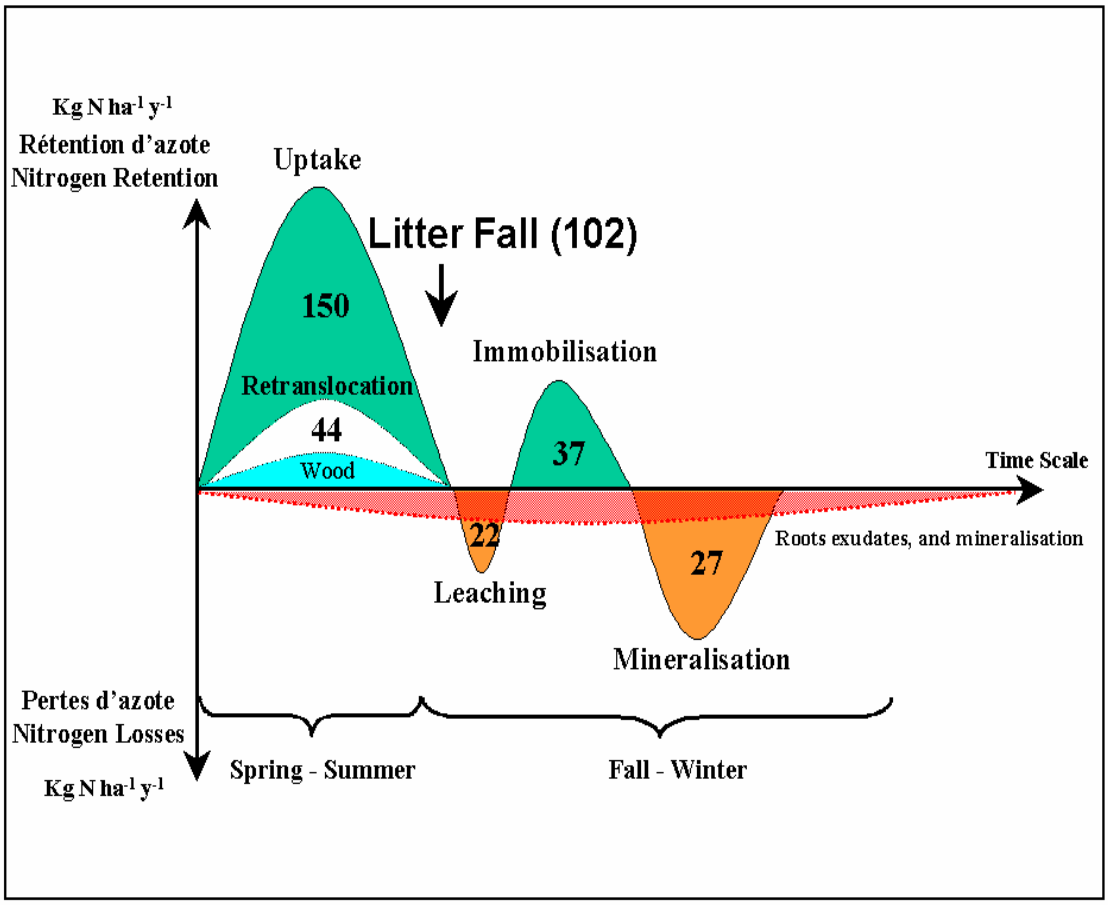


Figure 16: Schéma résumant la rétention et la perte d'azote moyenne mesurée sur les 3 sites d'étude lors d'un cycle végétatif complet.

La différence qui existe entre l'azote assimilée et la somme de la translocation et de la décomposition dans son ensemble, peut être attribuée à un stockage à plus long terme sous forme de bois (cf. Forêt) ou bien à une perte par l'exsudation et la sénescence racinaires. En effet, il reste à pondérer ces résultats par rapport aux pertes d'azote dues à la décomposition des tissus racinaires. Même si aucune rétention d'azote due au phénomène d'immobilisation n'a été observée, il n'en demeure pas moins que les quantités d'azote diffusée tout au long de l'année par les tissus racinaires sont certainement loin d'être négligeables (Figure 16).

Le type de couverture végétale comme facteur influençant la régulation des stocks d'azote doit être considéré avec précautions. Le site forestier semble être aussi efficace en terme de production primaire que la Prairie, ceci étant sans doute le résultat d'une strate arborescente encore jeune et dont la croissance n'est pas terminée. En effet, lorsque les arbres auront atteints leur maturité, leurs capacités d'assimilation devraient être réduites (Omernick et al. 1981). De plus, l'ombrage qu'entraîne la strate arborescente limite la production primaire de sa strate herbacée, limitant ainsi son effet d'obstacle hydraulique face aux écoulements de surface. A l'inverse, un aspect positif de la présence d'une strate arborescente est lié au fait que le système racinaire des arbres peut permettre une remontée de nappe, favorisant ainsi la dénitrification de nitrates qui seraient autrement inaccessible (Whigham et al. 1986, Charrier and Dusquesne 1995). Enfin, le temps de rétention de l'azote prélevé dans la Forêt semble être plus long que pour les autres sites et favorise donc sa prise en charge par d'autre processus.

La Friche se démarque clairement des deux autres sites par les quantités d'azote que sa végétation utilise. Même si la production primaire est essentiellement le résultat de la zone 3 située en pied de talus, il faut noter le fort taux d'immobilisation de l'azote qui a lieu lors de la décomposition. Cette activité bactérienne, nettement supérieure à ce que l'on trouve dans les autres sites d'étude, permet de limiter le lessivage de l'azote pendant la période hivernale.

La Prairie présente la plus forte capacité à retenir l'azote grâce à la translocation; mais dans le même temps sa vitesse de minéralisation accélère le turn-over de l'azote de la litière. Par ailleurs, cette apparente rétention reste à être corrigée par les pertes d'azote due au système racinaire.

Le gradient d'hydromorphie n'a pas pu être appréhendé pour chaque site séparément, seule une analyse regroupant les trois types de couvertures végétales a permis de voir apparaître quelques caractéristiques. La zone en pieds de talus (zone 3) se distingue des autres par des quantités d'azote prises en charge. Notamment, la quantité d'azote immobilisée y est nettement supérieure. La zone 2 semble caractérisée par la proportion d'azote conservé dans les organes de stockage par rapport à l'azote assimilé. Cette zone présente de faibles quantités d'azote re-larguées par la litière puis diffusées ou minéralisées, ces quantités annuelles subissent cependant un turn-over extrêmement rapide, la quasi-totalité de l'azote contenu dans la litière étant libérée au sol dans l'année. Enfin, la zone 1, plus proche du cours d'eau et donc plus souvent inondée, semble se caractériser surtout par une végétation utilisant majoritairement des nutriments azotés autochtones.

SYNTHESIS

Riparian zones are known to capture and transform nitrogen compounds from shallow through-flowing groundwater. In this way riparian ecosystems can function as buffer zones to diminish diffuse pollution of surface waters due to agricultural activities. Plant uptake and denitrification can be considered the most important processes responsible for N retention. In many "natural" riparian zones, however, nutrients taken up by plants remain in the system only temporarily and may be released by mineralisation later. The rate of nutrient recycling in ecosystems is determined by the longevity of plant parts, by the refractibility of litter components and by the suitability of environmental conditions for decomposition. Consequently, plants do not remove nutrients from the ecosystem but increase the residence time of nutrients by a reduction in the mobility of N compounds. However, high nutrient inputs into riparian buffer zones are expected to lead to an increased rate of nutrient cycling because of a more rapid plant growth, shorter longevity of plant parts, higher nutrient contents (decreased retranslocation) and lower contents of secondary metabolites in litter. In this way, the increased nutrient availability would be expected to lead to a shorter retention time of nutrients in the riparian buffer zone as a whole.

The aim of this study was to quantify the nutrient uptake in the vegetation, the nutrient losses from plants through leaching and litter production, the decomposition and N mineralisation / immobilisation in the three riparian zones with varying vegetation cover in order to evaluate the importance of vegetation in the effective retention of nutrients in buffer zones.

Considering all sites together, the vegetation growth stores a significant amount of nitrogen. In the whole riparian strip, we found that above-ground biomass production was as high as 9800 kg dry mass ha^{-1} $year^{-1}$ or 150 kg N ha^{-1} $year^{-1}$. Thus, diffuse pollution of surface waters can be efficiently limited by vegetation uptake during the growing season; however the groundwater level does have to be in contact with the roots. When the above-ground biomass is about to die, a portion of the nitrogen contained in the green tissues is retranslocated in other plants parts for storage. In this study we found 44 kg N ha^{-1} $year^{-1}$ of retranslocation as an average for the whole riparian area. Following this, the litter falls to the ground and the decay starts. First, there is a fast and short loss of nitrogen via leaching (22 kg N ha^{-1} $year^{-1}$), then the immobilisation process requires nutrients from the surrounding environment (37 kg N ha^{-1} $year^{-1}$) to balance the still high C:N ratio of the fresh litter compared to that of the decomposer community. This process can reduce the amount of available nitrogen and phosphorus in the soil environment and contribute to the short-term retention of nutrients in riparian zones. **As litter production predominantly occurs in autumn, the retention through immobilization mainly occurs over the winter period when plant uptake is low and the risk of nutrient losses is high due to excessive rainfall**. Hence, immobilisation may be an important process in the N retention in buffer zones. Finally, the litter is slowly mineralised and N compounds return to soil as inorganic nitrogen which is therefore available to denitrification, vegetation uptake or leaching.

The difference between the absolute amount of N taken up and the amount of N retranslocated and decayed can be attributed either to a long-term storage system like wood production or to root exudates and death. In fact, the results of this study still have to be balanced with the N losses due to the root turn-over which is certainly an important component of the riparian nitrogen cycle (Fig. 16). Yet, from the above mentioned experiments, it seems that the root litter can not be important in the nitrogen retention *via* the immobilisation process, since the mineralisation is instantaneous after the beginning of the litter formation (Figure 13).

Given the young age of its tree canopy, primary production at the Forest site is as important as in the Meadow; this will change once the canopy is mature with lower needs in term of N assimilation. Furthermore, the shade of the tree leaves will limit the growth of herbaceous species too. One positive aspect of the tree canopy is that the N retention time is longer than in the other study sites. Indeed, only 4.5 % of the nitrogen content of the Forest litter is released in the first year of decomposition, while the Shrub and the Meadow release 13.7 and 16.5 % respectively (Table 2). This is mainly due to the low decomposition rates. In fact, the decomposition rates of the herbaceous-dominated riparian sites (Shrub and Meadow) are significantly higher than the Forested one ($p = 0.01$). This is probably caused by the presence of ligneous leaf veins in tree leaves and other differences in litter quality (e.g. lignin content). Initial litter N content in forest derived litter was higher than herbaceous litter, so that this aspect of litter quality cannot explain the differences in decomposition rate (Figure 8).

The Shrub vegetation differs from the other study sites in the amount of nitrogen which is taken up, since the primary production results mainly from the vegetation located in Zone 3 (Upland side). However, the amount of immobilised nitrogen in zone 3 of the Shrub site is also important and must significantly restrict the loss of nitrogen *via* leaching in the winter period. The high N uptake in the Shrub site (25 g N m^{-2} $year^{-1}$) is comparable to that found in natural Phragmites marshes. The other sites have values of 6-10 g N m^{-2} $year^{-1}$, which is within the range characteristic for eutrophic wetlands. The maximum value in constructed, extremely high loaded Phragmites wetlands is about 120 g N m^{-2} $year^{-1}$.

The Meadow vegetation has the highest capacity to delay nitrogen release to soil. Indeed, the retranslocation capacity and the immobilisation rate are important and 68 % of the yearly nitrogen uptake is momentarily "blocked" *via* these processes (Table 2). Yet, the mineralisation rate compared to the total amount of nitrogen in the litter allows a fast liberation of inorganic nitrogen.

We did not find any obvious relation between N loading and plant uptake. This does not imply that there was no variation in biomass production or plant N concentrations between sites (Tables 2 and 3). The absence of a relation of plant uptake with N loading may be explained by growth limitation by other macronutrients such as P, K, by light or by flooding. Another explanation may be that N is very efficiently removed by soil processes as denitrification, so that actual availability of N for plants is strongly reduced. Another possibility may be that the high C:N ratios of the fresh litter (from 33.9 to 34.7) make the decomposers (lower C:N ratio, about 5:1) dependant on the inorganic nitrogen which is the immobilised and not available for plant assimilation (Killham, 1994; Hodge et al., 2000).

The hydromorphic gradient was mainly obscured by the differences in species composition from zone 3 to zone 1. However, we grouped the three study sites and discussed the few characteristics that come out from this averaging (Table 3). The upper zone, i.e. zone 3, is remarkable in the amount of nitrogen which is cycling through the vegetation; the immobilisation rate is significantly higher than in the other zones. The intermediate zone, i.e. zone 2, is characterized by the percentage of the nitrogen uptake which is retranslocated. This zone has low leaching and mineralisation rates, though the nitrogen turn-over is relatively fast since the amount of mineralised nitrogen is almost equivalent to the N content of the litter. Finally, the lower zone, i.e. zone 1 closest to the stream and more often submerged, is characterized by vegetation which grows mainly by using autochthonous nitrate.

Les Zones Humides de Fonds de Vallée et la Régulation des Pollutions Azotées Diffuses.

CONCLUSION GENERALE

L'analyse de l'hydrologie de nos sites d'étude s'est néanmoins révélée utile pour la compréhension des mécanismes responsables de la diminution des teneurs en nitrates dans l'eau de subsurface. L'identification des principaux réservoirs qui participent à l'hydrologie globale de la plaine inondable fut une première étape nécessaire mais non suffisante. D'apparence relativement simple, le fonctionnement hydrologique de la zone riveraine se caractérise en fait par une forte complexité des écoulements et des liens qui unissent les réservoirs dans le temps et dans l'espace. Les facteurs qui contrôlent cette complexité sont principalement le régime pluviométrique et la géomorphologie du site. A ce titre, il est intéressant de noter la pérennité de l'impact du bras mort (ancien lit du cours d'eau) qui tient toujours le rôle de drain naturel des flux hydriques parcourant la zone riveraine.

On retiendra principalement que les apports d'azote allochtones se font par la nappe de versant qui pénètre dans la zone riveraine au niveau du talus de ceinture puis rejoint le bras mort. Ce dernier se déverse dans le cours d'eau en aval de la zone riveraine. La nappe de versant subit une élimination des nitrates à l'entrée de la zone humide, c'est à dire dans les premiers mètres situés entre le talus de ceinture et le bras mort. Des phénomènes de dilution avec une nappe profonde et captive faiblement chargée en nitrate ont lieu auprès du bras mort, mais ils sont néanmoins limités dans le temps. Par ailleurs, une anomalie de la topographie de la nappe est visible en période sèche et semble trahir la présence d'écoulements préférentiels probablement dues à des discontinuités pédologiques. Il n'en demeure pas moins que des phénomènes de rétentions biologiques de l'azote ont pu être mis en évidence dès l'entrée dans la ripisylve avant même d'atteindre la zone de dilution potentielle. L'interface entre zones humides et terres agricoles est donc essentielle dans la régulation des pollutions azotées diffuses. Les estimations de flux d'azote et de taux de rétention, bien que sujets à de trop nombreuses approximations, ont tout de même permis d'évaluer l'efficacité de cette régulation.

Les investigations concernant les paramètres physico-chimiques du sol et les processus utilisant l'azote ont permis d'approfondir la répartition spatiale et temporelle de l'activité dénitrifiante.

Celle-ci se distribue inégalement le long des profils de sol. En effet, les plus fortes activités sont localisées dans les 25 premiers centimètres du sol et diminuent avec la profondeur. Ce gradient est présent en permanence, sans que la saison ou le type de végétation ne présentent d'influence significative. En fait, les facteurs explicatifs de l'activité dénitrifiante *in situ* et potentielle sont différents d'un horizon à l'autre et tendent à montrer que la dénitrification en profondeur est relativement indépendante des paramètres physico-chimiques, du moins à l'échelle de temps appréhendée au cours de ces travaux.

En termes quantitatifs, les activités dénitrifiantes *in situ* mesurées en profondeur restent significatives tout au long de l'année dans les trois sites d'étude. La capacité d'élimination des pollutions azotées diffuses de ce processus est donc présente toute l'année et sans effet apparent de la végétation. Les quantités d'azote recyclées par la dénitrification seront d'autant plus importantes que le volume de contact entre le sol et la nappe sera grand.

L'horizon de surface se différencie par une dénitrification potentielle plus forte mais aussi par une plus grande sensibilité aux variations saisonnières de certains facteurs limitant (anaérobiose et fourniture en nitrates). Ces facteurs se répartissent le long des transects;

l'anaérobiose est d'autant plus limitante que la zone est proche du talus, alors que les nitrates sont de plus en plus limitant au fur et à mesure que l'on s'éloigne du pied de talus. Cette répartition suit celles du gradient d'hydromorphie et de la disparition progressive des nitrates le long des transects.

La zone 3 (pied de talus) se démarque des autres zones par une potentialité de dénitrification plus importante jusqu'à 50 cm de profondeur. Elle peut être définie comme la zone active dans laquelle se déroule la majorité de la rétention de l'azote par la dénitrification. La zone 2 peut y être associée alors que la zone 1 correspond plutôt à la zone potentielle pouvant se révéler efficace si les nitrates devaient l'atteindre. L'évolution spatiale de la zone active semble réduite en terme de position par rapport au talus, par contre l'augmentation du volume d'échange entre sol et nappe à l'intérieure de cette zone joue un rôle essentiel dans l'intensité du recyclage qui y a lieu. La spécificité de la zone 3 met en évidence l'importance de la zone d'entrée des nitrates allochtones. En termes de gestion des zones riveraines dans une optique de protection de la qualité des eaux de surface, il apparaît clairement que la longueur d'interface entre bassin versant agricole et zone humide est plus importante que la surface totale de zone humide.

Enfin, la comparaison des trois types de couvertures végétales en termes d'impact sur les capacités dénitrifiantes ne laisse pas apparaître un type de végétation plus "efficace" qu'un autre. En effet, la fourniture de carbone n'est pas limitante dans les 3 sites et peu de différences significatives ont été trouvées entre les différentes végétations. En fait, les 3 sites d'étude se trouvent tous sur le même versant et sont géographiquement très proches les uns des autres. Les caractéristiques du sol y sont donc très similaires, de même que leurs topographies et les niveaux d'entrée en nutriments *via* la nappe de versant. Il semble donc que ces caractéristiques communes liées à la géomorphologie globale du fond de vallée soient plus pertinentes, dans une même région, pour prédire une éventuelle capacité tampon de la zone humide, plutôt que le type de couverture végétale.

En définitive, la structure spatiale et temporelle de la dénitrification révèle une activité dénitrifiante sans doute capable d'éliminer une partie des nitrates allochtones transportés par la nappe de versant jusqu'à la zone humide. Cependant, il restait difficile de conclure que toute l'élimination était le résultat de ce seul processus biologique, surtout si l'on considère l'utilisation de l'azote par la végétation en période de croissance.

Dans ce sens, l'utilisation de l'abondance naturelle des isotopes stables de l'azote a confirmé plusieurs informations importantes.

En premier lieu, la dénitrification se révèle être bien responsable de la majeure partie de la rétention des nitrates le long des transects, et cette élimination a lieu aussi en profondeur. Par ailleurs, les teneurs en ^{15}N permettent de confirmer que la zone active où la dénitrification élimine le plus les nitrates se situe bien à proximité du talus. Enfin, l'abondance naturelle en ^{15}N de l'eau a permis de vérifier que les phénomènes de dilution avec une eau peu chargée en nitrates étaient quasiment nuls en dehors de la période de dôme piézométrique.

Au-delà de du renforcement de ces résultats, de nouvelles informations ont été apportées par la mesure des $\delta^{15}N$ des nitrates de la nappe et des tissus de la végétation. En effet, la dénitrification montre des variations saisonnières avec des activités plus fortes en Été et plus faible en Hiver. Dans le même temps, il apparaît que la végétation riveraine utilise plutôt de l'azote enrichi en ^{15}N par le processus de dénitrification et que sa participation à la rétention des nitrates est faible en Été. Tout ceci est en opposition avec le schéma classique dans lequel la dénitrification serait plus active en Hiver et la végétation plus active en Été. La complémentarité de ces deux processus est donc toujours réelle mais selon un schéma inverse.

La complémentarité de l'assimilation végétale et de la dénitrification se manifeste à divers niveaux. La végétation retient temporairement l'azote et la transforme en éléments organiques qui sont restitués au sol. De part leur nature plus complexe et les conditions du milieu, ces composés organiques sont long à re-transformer en azote inorganique. Cette lenteur est favorable à la dénitrification puisqu'elle a le temps de les utiliser. De plus, la

décomposition s'accompagne d'une immobilisation de l'azote inorganique qui a lieu à la saison où il est le plus susceptible d'être lessivé par les pluies. L'azote est immobilisé puis lentement minéralisé à la saison qui correspond à la reprise de la végétation qui peut donc l'utiliser. La minéralisation continue et c'est la dénitrification qui peut aussi profiter de cette source d'azote. Un autre aspect de la complémentarité se situe dans la dichotomie du sol avec les racines dans les horizons superficielles et la dénitrification en profondeur grâce au carbone provenant de la végétation.

En fait, le sol des zones humides riveraines semble devoir être considéré comme l'assemblage de 2 compartiments: l'horizon de surface (environ les 50 premiers centimètres) qui subit les plus fortes fluctuations de nappe et l'horizon situé au delà de 75 cm de profondeur où la nappe s'écoule continuellement. En hautes eaux, ces 2 compartiments participent à la rétention de l'azote par la dénitrification sur l'ensemble du profil et par l'assimilation végétale sur les 50 premiers centimètres (zone racinaire). En basses eaux, les nitrates de la nappe sont seulement éliminés par la dénitrification en profondeur, même si une remontée par capillarité vers les 50 premiers centimètres peut exister. Ainsi, la végétation riveraine est essentiellement reliée à l'horizon de surface, même si elle peut aussi avoir des effets indirects sur les horizons plus profonds (fourniture de carbone).

L'analyse du cycle de la végétation dans chacun des sites d'étude a mis en évidence la forte capacité de production de la végétation riveraine en général. Cette production entraîne donc une rétention temporaire d'azote en quantités non négligeables. A la chute de la litière une majeure partie de cet azote retourne au sol, mais d'autres processus permettent d'augmenter son temps de résidence dans la zone humide. La translocation et l'immobilisation limitent en effet le lessivage de l'azote. De plus, la minéralisation est relativement lente et entraîne une libération progressive des composés azotés sous forme inorganique, laissant ainsi la possibilité à la dénitrification et à la végétation de les réutiliser. Les différentes couvertures végétales se distinguent les unes des autres par quelques caractéristiques. La Friche présente la plus forte production primaire et des taux d'immobilisation importants permettant sans doute de limiter le lessivage de l'azote en période hivernale. La Prairie possède une forte capacité à "retenir" l'azote assimilée grâce à la translocation, cependant l'azote libéré est rapidement minéralisé. Enfin, la Forêt présente une productivité primaire relativement importante et l'azote contenu dans sa litière est très lentement minéralisé.

L'effet du gradient hydromorphique sur le cycle de la végétation s'est révélé difficile à appréhender. Seul un regroupement des 3 sites d'étude a fait ressortir quelques indications. La zone 3 se distingue en effet par une forte production primaire et une importante capacité d'immobilisation lors de la décomposition de la litière. La zone 2 se caractérise par une forte translocation, mais aussi par une litière rapidement décomposée. Enfin, la zone 1 semble se singulariser par une végétation utilisant plutôt des nutriments azotés autochtones.

A titre indicatif, les Figures 1, 2 et 3 présentent les moyennes annuelles dans chaque site des divers processus et compartiments en relation avec l'azote. Ces cycles sont inspirés de la Figure 1 du chapitre "Végétation". Ils tiennent compte des mesures qui concernent la végétation, mais aussi des valeurs obtenues lors de l'étude de l'azote dans le sol (cf. chapitre 2) et des flux estimés dans le chapitre 1. Concernant les valeurs provenant de l'étude du sol, les quantités par m² sont calculées en prenant en compte les 50 premiers centimètres. Ce choix est basé sur le fait que le système racinaire est principalement localisé dans cette zone. Les flux utilisés ici sont ceux calculés dans le chapitre 1 pour la période hivernale et sont appliqués aux concentrations à l'entrée et à la sortie de chaque site. Ils correspondent à ce qui entre ou sort de la section de zone humide prise en compte (environ 10 m) dans chaque site d'étude sur un an.

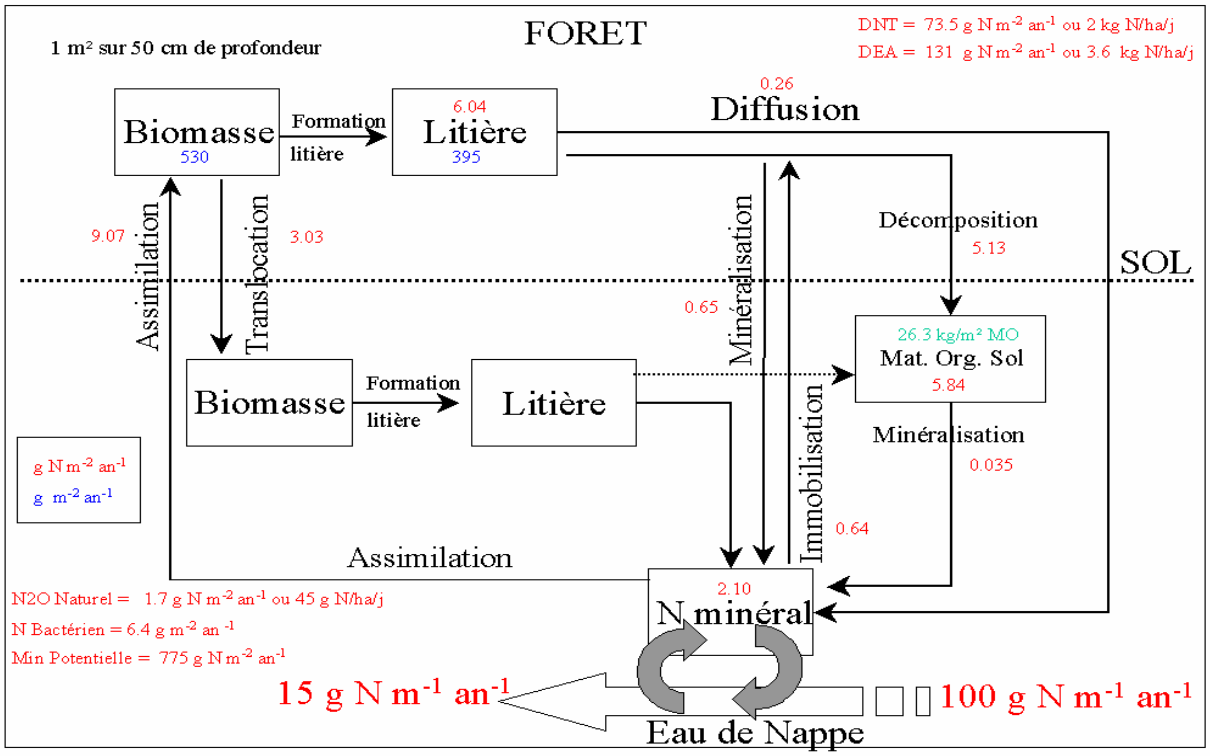


Figure 1: Schéma du cycle de l'azote dans la Forêt à partir des données issues de l'ensemble des travaux de cette thèse. Les chiffres présentés sont des moyennes annuelles.

Dans la Forêt, environ 85 g d'azote par an sont éliminés de l'eau de nappe lors de son trajet le long des transects. Cette quantité est donc prise en charge par les processus biologiques du site.

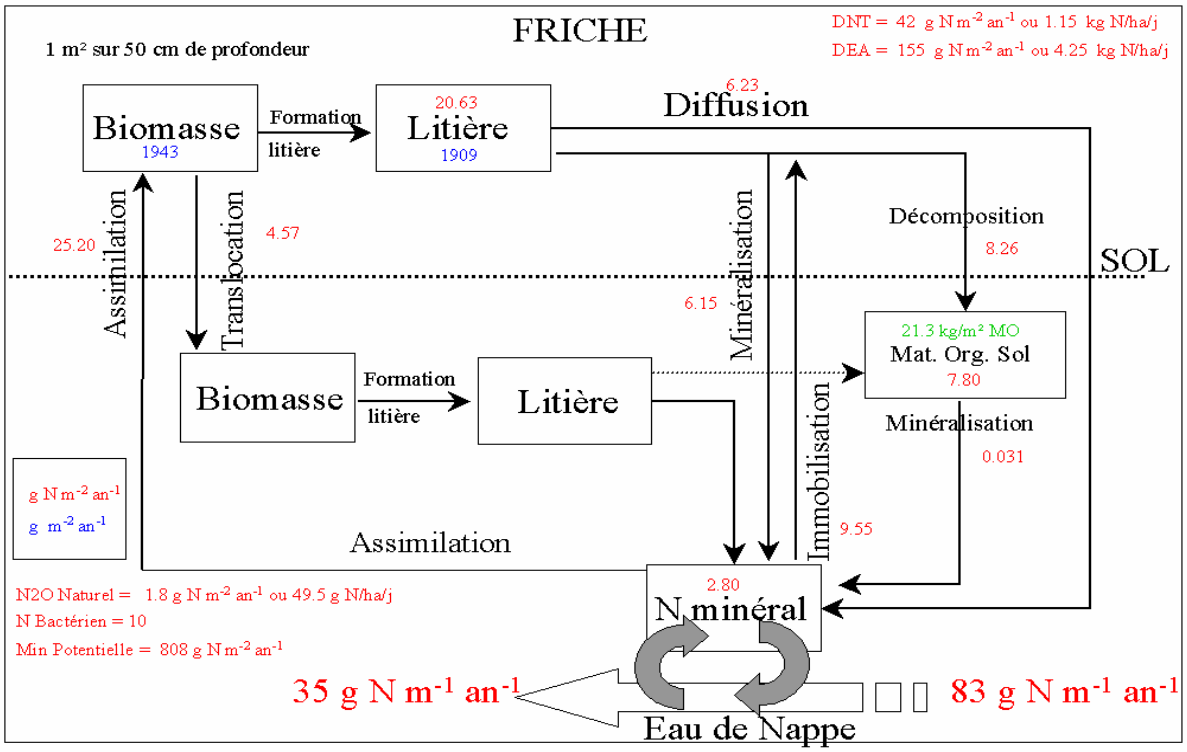


Figure 2: Schéma du cycle de l'azote dans la Friche à partir des données issues de l'ensemble des travaux de cette thèse. Les chiffres présentés sont des moyennes annuelles.

Pour la Friche, les flux d'azote en jeu sont dans l'ensemble nettement plus importants que pour les 2 autres sites, et pourtant la diminution des flux d'azote entrant dans la zone et l'activité dénitrifiante sont, en moyennes annuelles, plus faibles que dans les autres sites. L'immobilisation très forte peut laisser penser qu'une importante compétition pour la ressource en nitrate en est à l'origine. La forte teneur en azote bactérien semble confirmer ce point.

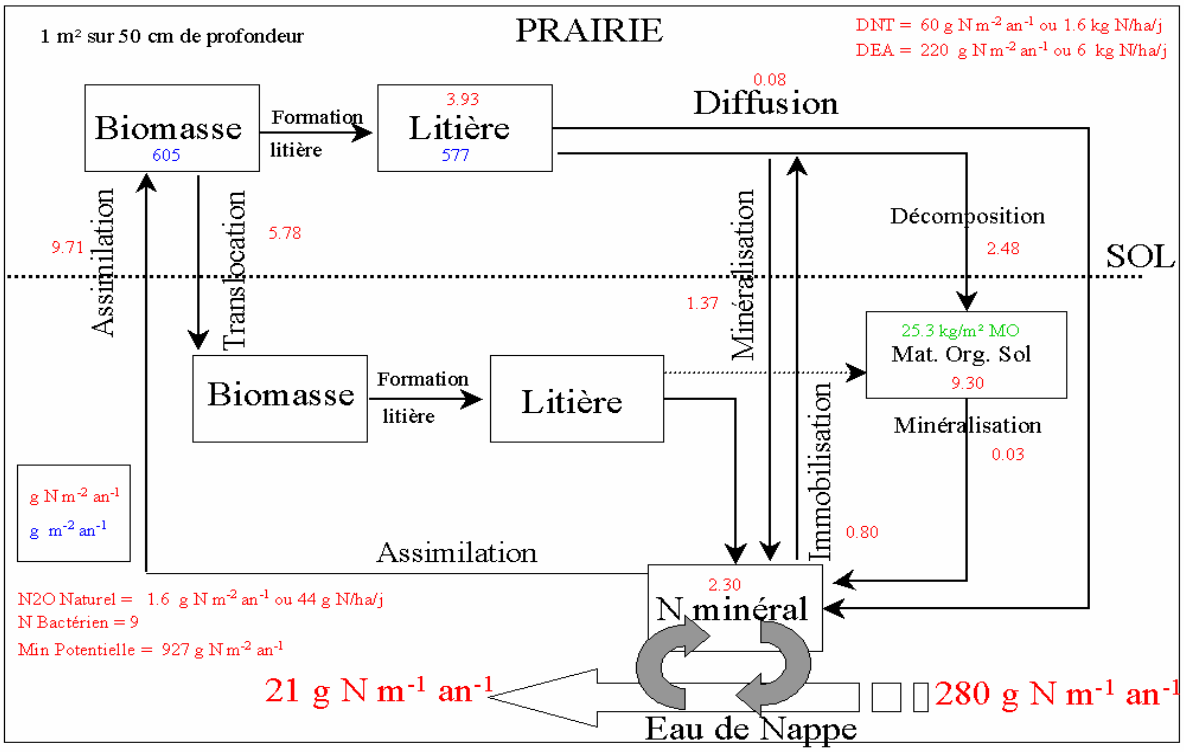


Figure 3: Schéma du cycle de l'azote dans la Prairie à partir des données issues de l'ensemble des travaux de cette thèse. Les chiffres présentés sont des moyennes annuelles.

La Prairie présente la plus forte réduction des flux d'azote qui entrent dans la zone (92 %). Les fortes teneurs en matières organiques et l'importante activité dénitrifiante potentielle en sont sans doute à l'origine.

En conclusion, le croisement incessant des différents travaux menés lors de cette thèse ont permis d'appréhender les mécanismes de rétention des pollutions azotées diffuses qui ont lieu dans les zones humides de fonds de vallée et d'infirmer ou de confirmer les hypothèses de recherches.

La complexité de l'organisation hydrologique des zones riveraines est démontrée et permet de reconsidérer leurs capacités tampons dans une optique plus large prenant en compte, notamment, la diversité des sources, la géomorphologie du site et sa situation par rapport aux flux d'azote allochtones. Ceci est particulièrement vrai dans la région Bretagne où les zones humides de fonds de vallée ont pour la plupart été exploitées et aménagées par le passé, changeant de façon notable leurs organisations naturelles, et donc leur apparence qui peut parfois être trompeuse pour qui veut évaluer leurs capacités tampons.

La zone active, en termes de rétention d'azote, est clairement définie. Il s'agit des tous premiers mètres de zone humide situés tout de suite après le talus de ceinture. Sa position ne semble pas varier selon les saisons, mais l'échelle de temps utilisé ici est relativement courte. L'éventuel aménageur doit être conscient que si cette zone active existe, c'est aussi grâce à la présence du reste de la zone humide se trouvant entre elle et le cours d'eau. La zone "potentielle" présente un intérêt certain dans l'éventualité d'une augmentation des flux, mais elle possède aussi d'autres intérêts qui sont tout autant d'actualité: limitation des crues, habitat pour la faune et la flore…et *quid* des autres polluants transportés par la nappe (pesticides, métaux lourds, phosphates…)? Rien ne prouve en effet que la zone active pour la rétention de l'azote soit la même pour d'autres éléments indésirables. L'azote 15 s'est révélé très utile pour comprendre cet aspect là. Enfin, bien qu'en opposition avec la littérature, nous avons trouvé

que dans nos sites la dénitrification était plus intense en Été qu'en hivers. Mais ceci doit être relativisé en raison des différences notables de flux et de volumes d'échange entre nappe et sol qui caractérisent ces saisons.

La nature de la couverture végétale ne s'est pas avérée être un facteur déterminant des niveaux de rétention de l'azote au sein des sites étudiés. En fait, le contexte hydrogéomorphologique identique aux trois zones impose son contrôle sur les capacités tampons, et le type de végétation n'est plus essentiel si la fourniture de carbone qu'elle assure est suffisante en quantité et en qualité. Cependant, cet état de faits changera avec l'évolution de la végétation, notamment *via* les successions végétales étant donné que les sites ne sont pas perturbés par des activités humaines. Enfin, le phénomène d'immobilisation hivernale de l'azote, qui a lieu lors de la décomposition de la litière, met en évidence un autre intérêt certain de la végétation dans la rétention des flux de nitrate.

Au final, les zones humides en bordure de petits cours d'eau ont bel et bien un rôle dans la rétention des flux d'azote provenant des bassins versants agricoles, leur effet protecteur sera d'autant plus important que la longueur d'interface entre zone humide et bassin versant sera grande. Il ne faut cependant pas oublier qu'un cours d'eau possède 2 berges. On peut reprendre l'image des "reins" du paysage agricole, les zones riveraines entourant un cours d'eau permettent effectivement de "filtrer" bon nombre de composés indésirables dans l'eau, mais si l'un des deux "reins" manque, alors la moitié de ces substances atteindra le cours d'eau.

Les zones de fonds de vallée sont donc intéressantes pour aider à protéger la qualité des eaux de surface, mais il est clair qu'elles ne peuvent pas être le seul moyen utilisé pour réduire les pollutions azotées diffuses. Une réflexion quant à la disposition des différents types de cultures dans le bassin versant peut être une piste intéressante, mais il n'en demeure pas moins qu'une réduction des intrants et une optimisation de leur utilisation serait encore plus efficace.

BIBLIOGRAPHIE

Abbasi, M. K., and W. A. Adams. 2000. Gaseous N emission during simultaneous nitrification-denitrification associated with mineral N fertilization to a grassland soil under field conditions. Soil Biology and Biochemistry 32: 1251-1259.

Adamson, J. K. 1986. Commercial forest felling and drainage water chemistry. in J. F. a. S. Solbe, L.G. (editor). Effects of land use on fresh water.

Addy, K. L., A. J. Gold, P. M. Groffman, and P. A. Jacinthe. 1999. Ground water nitrate removal in subsoil of forested and mowed riparian buffer zones. Journal of Environmental Quality 28: 962-970.

Altman, S. J., and R. M. Parizek. 1995. Dilution of nonpoint-source nitrate in groundwater. Journal of Environmental Quality 24: 707-718.

Armstrong, A. C., and T. P. Burt. 1993. Nitrate losses from agricultural land. in T. P. Burt, A. L. Heathwaite, and S. T. Trudgill (editors). Nitrate, processes, patterns and management. John Willey & Sons Ltd.

Art, H. W., and P. L. Marks. 1978. A summary table of biomass and net annual primary production in forest ecosystems of the world. in H. F. H. Lieth (editor). Patterns of primary production in the biosphere. Hutchinson & Ross Inc., Dowden.

Bailey, L. D. 1976. Effects of temperature and root on denitrification in soil. J. Soil Sci. 56: 79-87.

Balesdent, J. 1996. The significance of organic separates to carbon dynamics and its modelling in some cultivated soils. European Journal of Soil Science 47: 485-494.

Ball, D. F. 1964. Loss on ignition as an estimate of organic matter and organic carbon on non calcareous soils. Journal of Soil Science 15: 84-92.

Barnes, H., and A. R. Kolkar. 1951. The determination of nitrites. National Council for Exploration of the Sea, Charlottenlund.

Batjes. 1992. A review of soil factors and processes that control fluxes of heat, moisture and greenhouse gases. Paper 23, wise report 3, Netherlands national research programme on global air pollution and climate change, International Soil Reference and Information Center.

Baudry, J., F. Burel, C. Thenail, and D. L. Coeur. 2000. A holistic landscape ecological study of the interactions between farming activities and ecological patterns in Brittany, France. Landscape and Urban Planning 50: 119-128.

Bauhus, J., D. Pare, and L. Cote. 1998. Effects of tree species, stand age and soil type on soil microbial biomass and its activity in a southern boreal forest. Soil Biology and Biochemistry 30: 1077-1089.

Beauchamp, E. G., C. Gale, and J. C. Yeomans. 1980. Commun. in Soil Sci. Plant Anal. 11: 1221.

Berendse, F., B. Berg, and E. Bosatta. 1987. The effect of lignin and nitrogen on the decomposition of litter in nutrient-poor ecosystems: a theoretical approach. Can. J. Bot. 65: 1116-1120.

Bijay-Singh, J. C., J. C. Ryden, and D. C. Whitehead. 1988. Some relationships between denitrification potential and fractions of organic carbon in air-dried and field moist soils. Soil Biology and Biochemistry 20: 737-741.

Bijay-Singh, J. C., J. C. Ryden, and D. C. Whitehead. 1989. Denitrification potential and actual rates of denitrification in soils under long term grassland and arable cropping. Soil Biology and Biochemistry 21: 897-901.

Blicher-Mathiesen, G., G. W. McCarty, and L. P. Nielsen. 1998. Denitrification and degassing in groundwater estimated from dissolved dinitrogen and argon. Journal of Hydrology 208: 16-24.

Bohlke, J. K., and J. M. Denver. 1995. Combined use of groundwater dating, chemical and isotopic analyses to resolve the history and fate of nitrate contamination in two agricultural watersheds, Atlantic Coastal Plain, Maryland. Water Resources Research 31: 2319-2339.

Bölke, J. K., and J. M. Denver. 1995. Combined use of groundwater dating, chemical, and isotopic analyses to resolved the history and fate of nitrate contamination in two agricultural watersheds, Atlantic coastal plain, Maryland. Water Resources Research 31: 2319-2339.

Böttcher, J., O. Strebel, S. Voerkelius, and J. L. Schmidt. 1990. Using isotope fractionation of nitrate-nitrogen and nitrate-oxygen for evaluation of microbial denitrification in a sandy aquifer. Journal of Hydrology 114: 413-424.

Bouwer, H., and R. C. Rice. 1976. A slug test for determining hydraulic conductivity of unconfined aquifers with completely or partially penetrating wells. Water Resources Research 12: 423-428.

Bowden, W. B. 1987. The biogeochemistry of nitrogen in freshwater wetlands. Biogeochemistry 4: 313-348.

Brady, N. C. 1990. The Nature and Properties of Soils (tenth edition). Macmillan Publishing Company, New York, USA.

Braun-Blanquet, J. 1965. Plant Sociology. Hafner Publishing Company, New-York and London.

Bremner, J. M., and K. Shaw. 1958. Denitrification in soil. II Factors affecting denitrification. J. Agric. Sci. 51: 40-52.

Brinson, M. M., A. E. Lugo, and S. Brown. 1981. Primary productivity, decomposition and consumer activity in freshwater wetlands. Annual Review of Ecology and Systematic 12: 123-161.

Brinson, M. M., H. D. Bradshaw, and E. S. Kane. 1984. Nutrient assimilative capacity of an alluvial floodplain swamp. Journal of Applied Ecology 21: 1041-1057.

Brookes, P. C., A. Landman, G. Pruden, and D. S. Jenkinson. 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. Soil Biology Biochemistry 17 (6): 837-842.

Brunet, R. C., G. Pinay, F. Gazelle, and L. Roques. 1993. The role of floodplain and riparian zone in suspended matter and nitrogen retention in the Adour River, southwest France. Regulated Rivers 9: 55-63.

Burt, T. P. 1997. The hydrological role of buffer zones within the drainage basin system. Pages 21-32 in N. E. Haycock, T. P. Burt, K. W. T. Goulding, and G. Pinay (editors). Buffer Zones: Their Processes and Potential in Water Protection. Quest Environmental.

Burt, T. P., L. S. Matchett, K. W. T. Goulding, C. P. Webster, and N. E. Haycock. 1999. Denitrification in riparian buffer zones: the role of floodplain sediments. Hydrological Processes 13: 1451-1463.

Casanova, M. T., and M. A. Brock. 2000. How do depth, duration and frequency of flooding influence the establishment of wetland plant communities? Plant Ecology 147: 237-250.

Chapman, S. B. 1976. Methods in plant ecology. Blackwell Sc. Publ., Oxford.

Charrier, S. 1995. Les zones humides rivulaires en Bretagne, maintien de la qualité de l'eau des rivières et biodiversité. Préfecture de la région Bretagne, Programme Morgane.

Charrier, S., and P. Dusquesne. 1995. Réhabilitation et création des zones humides pour l'amélioration de la qualité de l'eau. Conseil Scientifique Régional de l'Environnement.

Chauvet, E., and A. M. Jean-Louis. 1988. Production de litière de la ripisylve de la Garonne et apports au fleuve. Acta Oecologica., Oecol. Generalis 9: 265-279.

Chauvet, E. 1989. Production, flux et decomposition des litières en milieu alluvial. Dynamique et rôle des hyphomycètes aquatiques dans le processus de décomposition. Doctorat d'Etat. Université Paul Sabatier de Toulouse, Toulouse, France.

Cho, C. M., D. L. Burton, and C. Chang. 1997. Kinetic formulation of oxygen denitrification processes in soil. Can. J. Soil Sci. 77: 253-260.

Christensen, S., and J. M. Tiedje. 1988. Denitrification in the field: analysis of spatial and temporal variability. in D. S. Jenkinson and K. A. Smith (editors). Nitrogen Efficiency in agricultural soils. Elsevier Science BV, New York, USA.

Christensen, S., S. Simkins, and J. M. Tiedje. 1990. Spatial variation in denitrification: Dependency of activity centers on the soil environment. Soil Science Society of America Journal 54: 1608-1613.

Clarke, F. E. 1950. Determination of chloride in water. An. Chem. 22.

Conrad, R. 1996. Microbiol. Rev. 60: 609.

Cooper, A. B. 1990. Nitrate depletion in the riparian zone and stream channel of a small headwater catchment. Hydrobiologia 202: 13-26.

Cooper, J. R., J. W. Gilliam, and T. C. Jacobs. 1986. Riparian areas as a control of non-point pollutants. Pages 166-192 in D. L. Correll (editor). Watershed Research Perspectives. Smithsonian Institute Press, Washington D.C. USA.

Daniels, R. B., and J. W. Gilliam. 1996. Sediment and chemical load reduction by grass and riparian filters. Soil Science Society of America Journal 60: 246-251.

Davidson, E. A., W. T. Swank, and T. O. Perry. 1986. Distinguishing between nitrification and denitrification as sources of gaseous nitrogen production in soil. Applied and Environmental Microbiology 52: 1280-1286.

Dorland, S., and E. G. Beauchamp. 1991. Denitrification and ammonification at low soil temperature. Can. J. Soil Sci. 71: 293-303.

Drury, C. F., D. J. McKenney, and W. I. Findlay. 1992. Nitric oxide and nitrous oxide production from soil: water and oxygen effects. Soil Science Society of America Journal 56: 766-770.

Dunn, G. M., R. A. Marbart, and C. M. Brown. 1979. Influence of oxygen tension on nitrate reduction by Klebalella sp. growing in chemostat culture. Journal of Canadian Microbiology 112: 379-383.

Elliot, L. F., and e. al. 1981. Wheat residue and nitrogen placement effects on wheat growth in the greenhouse. Soil Science Society of America Journal 131: 48-52.

Engler, R. M., and W. H. J. Patrick. 1974. Nitrate removal from floodwater overlying flooded soils and sediments. Journal of Environmental Quality 3: 409-413.

Fetter, C. W. 1994. Applied Hydrogeology, 3rd edition. Macmillan College Publishing Company, New York.

Firestone, M. K., M. S. Smith, R. B. Firestone, and J. M. Tiedje. 1979. The influence of nitrate, nitrite and oxygen on the decomposition of the gaseous products of denitrification in the soil. Soil Science Society of America Journal 43: 1140-1144.

Firestone, M. K., R. B. Firestone, and J. M. Tiedje. 1980. Nitrous oxide from soil denitrification: factors controlling its biological production. Nature 208: 749-751.

Firestone, M. K. 1982. Biological denitrification. Pages 289-326 in F. J. Stevenson (editor). Nitrogen in Agricultural Soils. American Society of Agronomy, Madison.

Firestone, M. K., and E. A. Davidson. 1989. Microbial basis of NO and N2O production and consumption in soil. Pages 7-21 in M. O. Andreae and D. S. Schimel (editors). Exchange of Trace Gases between Terrestrial Ecosystems and the Atmosphere. John Wiley & Sons.

Fisher, S. G., N. B. Grimm, E. Martí, R. M. Holmes, and J. B. Jones. 1998. Material spiralling in stream corridors: A telescoping ecosystem model. Ecosystems 1: 19-34.

Fogel, R. 1985. Ecological Interactions in Soil - Plants, Microbes and Animals. Pages 23-36 in A. H. Fitter (editor). Blackwell, Oxford.

Fry, B. 1991. Stable isotope diagrams of freshwater food webs. Ecology 72: 2293-2297.

Fustec, E., A. Mariotti, X. Grillo, and J. Sajus. 1991. Nitrate removal by denitrification in alluvial ground water: role of a former channel. Journal of Hydrology 123: 337-354.

Galloway, J. N., W. H. Schlesinger, H. Levy, A. Michaels, and J. L. Schnoor. 1995. Nitrogen fixation: anthropogenic enhancement-environmental response. Global Biogeochemical Cycles 9: 235-252.

Gamble, T. N., M. R. Bertlach, and J. M. Tiedje. 1977. Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. Applied and Environmental Microbiology 33: 926-939.

Garcia, B., C. Bertin, J. Ricard, P. Lavandier, and L. Labroue. 1994. Effet de berge, effet de vase, deux facteurs différents de mobilisation du manganèse: un exemple dans un champ captant de la vallée du Lot (France). Annales de Limnologie 30: 67-85.

Gebauer, G., and E. D. Schulze. 1991. Carbon and nitrogen isotope ratios in different compartments of a healthy and a declining Picea abies forest in the Fichtelgebirge, NE Bavaria. Oecologia 87: 198-207.

Germon, J. C., C. Hénault, F. Garrido, and R. Reau. 1999. Mécanisme de production, régulation et possibilités de limitation des émissions de N2O à l'échelle agronomique. C.R. Acad. Agri.

Gold, A. J., P. A. Jacinthe, P. M. Groffman, W. R. Wright, and R. H. Puffer. 1998. Patchiness in groundwater nitrate removal in a riparian forest. Journal of Environmental Quality 27: 146-155.

Goldman, E., and R. Jacobs. 1961. Determination of nitrates by ultraviolet absorption. J. Amer Water Works Ass. 53: 187.

Groffman, P. M., J. M. Tiedje, G. P. Robertson, and S. Christensen. 1987. Denitrification at different temporal and geographical scales: Proximal and distal controls. in J. R. Wilson (editor). Advances in Nitrogen Cycling in Agricultural Ecosystems. CAB International, Wallingford, UK.

Groffman, P. M., and J. M. Tiedje. 1988. Denitrification hysteresis during wetting and drying cycles in soil. Soil Science Society of America Journal 52: 1626-1629.

Groffman, P. M., and J. M. Tiedje. 1989. Denitrification in north temperate forest soils: spatial and temporal patterns at the landscape and seasonal scales. Soil Biology and Biochemistry 21: 613-620.

Groffman, P. M., A. J. Gold, and R. C. Simmons. 1992. Nitrate dynamics in riparian forests: microbial studies. Journal of Environmental Quality 21: 666-671.

Groffman, P. M. 1994. Denitrification in freshwater wetlands. Pages 15-35 in Current Topics in Wetland Biogeochemistry.

Groffman, P. M., G. C. Hanson, E. Kiviat, and G. Stevens. 1996a. Variation in microbial biomass and activity in four different wetland types. Soil Science Society of America Journal 60: 622-629.

Groffman, P. M., G. Howard, A. J. Gold, and W. M. Nelson. 1996b. Microbial nitrate processing in shallow groundwater in a riparian forest. Journal of Environmental Quality 25: 1309-1316.

Grundmann, G. L., and D. E. Rolston. 1987. A water function approximation to degree of anaerobiosis associated with denitrification. Soil Science 144: 437-441.

Grundmann, G. L., D. E. Rolston, and R. G. Kachanosky. 1988. Field soil properties influencing the variability of denitrification gas fluxes. Soil Science Society of America Journal 52: 1351-1355.

Hairsine, P. B. 1996. Comparing grass filter strips and near-natural riparian forests for filtering intense hillsope sediment sources. in I. D. Rutherfurd and M. Walker

(editors). Proceeding of First National Conference on Stream Management in Australia. Cooperative Research Center for Catchment Hydrology, Monash University, Victoria, Australia.

Hanson, G. C., P. M. Groffman, and A. J. Gold. 1994a. Symptoms of nitrogen saturation in a riparian wetland. Ecological Applications 4: 750-756.

Hanson, G. C., P. M. Groffman, and A. J. Gold. 1994b. Denitrification in riparian wetlands receiving high and low groundwater inputs. Journal of Environmental Quality 23: 917-922.

Hardman, D. J., S. McEldowney, and S. Waite. 1993. Pollution: Ecology and Biotreatment. Longman Group UK Ltd, Harlow.

Harrison, A. F., P. M. Latter, and D. W. H. Walton. 1988. Cotton strip assay: an index of decomposition in soils. Institute of Terrestrial Ecology, Grange-over-Sands, UK.

Haycock, N. E. 1991. Riparian land as buffer zones in agricultural catchments. Ph.D.

Haycock, N. E., and T. P. Burt. 1993. Role of floodplain sediments in reducing the nitrate concentration of subsurface run-off: A case study in the Cotswolds, UK. Hydrological Processes 7: 287-295.

Haycock, N. E., and G. Pinay. 1993. Groundwater nitrate dynamics in grass and poplar vegetated riparian buffer strips during the winter. Journal of Environmental Quality 22: 273-278.

Haycock, N. E., G. Pinay, and C. Walker. 1993a. Nitrogen retention in river corridors: European perspective. Ambio 22: 340-346.

Haycock, N. E., G. Pinay, and C. Walker. 1993b. Nitrogen retention in river corridors: European perspective. Ambio 22: 340-346.

Haycock, N. E., T. P. Burt, K. W. T. Goulding, and G. Pinay. 1997. Buffer Zones: Their Processes and Potential in Water Protection. Quest Environmental, Harpenden, UK.

Hedin, L. O., J. C. Vonfischer, N. E. Ostrom, B. P. Kennedy, M. G. Brown, and G. P. Robertson. 1998. Thermodynamic constraints on nitrogen transformations and other biochemical processes at soil-stream interfaces. Ecology 79: 684-703.

Hénault, C. 1993. Quantification de la dénitrification dans les sols à l'échelle de la parcelle cultivée, à l'aide d'un modèle prévisionnel, Montpellier.

Hill, A. R. 1990. Ground water flow paths in relation to nitrogen chemistry in the near-stream zone. Hydrobiologia 206: 39-52.

Hill, A. R. 1996. Nitrate removal in stream riparian zones. Journal of Environmental Quality 25: 743-755.

Hill, A. R., K. J. Devito, S. Campagnolo, and K. Sanmugadas. 2000. Subsurface denitrification in a forest riparian zone: interactions between hydrology and supplies of nitrate and organic carbon. Biogeochemistry 51: 193-223.

Hodge, A., D. Robinson, and A. Fitter. 2000. Are microorganisms more effective than plants at competing for nitrogen? Pages 304-308 in Trends in Plant Sciences - Perspectives.

Hojberg, H., N. P. Revsbech, and J. M. Tiedje. 1994. Denitrification in soil aggregates analysed with microsensors for nitrous oxides and oxygen. Soil Science Society of America Journal 58: 1691-1698.

Holmes, R. M., J. B. Jones, S. G. Fisher, and N. B. Grimm. 1996. Denitrification in a nitrogen-limited stream ecosystem. Biogeochemistry 33: 125-146.

Holmes, R. M., J. W. McClelland, D. M. Sigman, B. Fry, and B. J. Peterson. 1998. Measuring $^{15}N\text{-}NH_4^+$ in marine, estuarine, and fresh waters: an adaptation of the ammonia diffusion method for samples with low ammonium concentrations. Marine Chemistry 60: 235-243.

Hubbard, R. K., and R. Lowrance. 1997. Assessment of forest management effects on nitrate removal by riparian buffer systems. Trans ASAE 40: 383-391.

Hyman, M. R., and D. J. Arp. 1987. Quantification and removal of some contaminating gases from acetylene used to study gas-utilizing enzymes and microorganisms. Applied and Environmental Microbiology 53: 298-303.

Hynes, R. K., and R. Knowles. 1978. Inhibition by acetylene of ammonia oxidation in *Nitrosomonas europea*. FEMS Microbiology Letters 4: 319-321.

Jacinthe, P. A., P. M. Groffman, A. J. Gold, and A. Mosier. 1998. Patchiness in microbial nitrogen transformations in groundwater in a riparian forest. Journal of Environmental 27: 156-164.

Jacobs, T. C., and J. W. Gilliam. 1985. Riparian losses of nitrate from agricultural drainage waters. Journal of Environmental Quality 14: 472-478.

Jaffrezic, A. 1997. Géochimie des éléments métalliques des nitrates et du carbone organique dissous dans les eaux et les sols hydromorphes. Agriculture intensive et qualité des eaux dans les zones humides en Bretagne, Rennes, France.

Jenkinson, D. S., and D. S. Poulson. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-V. A method for measuring soil biomass. Soil Biology Biochemistry 8: 209-213.

Johnston, C. A. 1991. Sediment and nutrient retention by fresh water wetlands: effects on surface water quality. Critical Reviews in Environmental Control 21: 491-565.

Jordan, T. E., D. L. Correll, and D. E. Weller. 1993a. Nutrient interception by a riparian forest receiving inputs from adjacent cropland. Journal of Environmental Quality 22: 467-473.

Jordan, T. E., D. L. Correll, and D. E. Weller. 1993b. Nutrient interception by a riparian forest receiving inputs from adjacent cropland. Journal of Environmental Quality: 467-473.

Kaplan, W. A., J. M. Teal, and I. Valiela. 1977. Denitrification in salt marsh sediments: Evidence for seasonal temperature selection among population of denitrifiers. Microbiol. 3: 193-204.

Keeney, D. R., and D. W. Nelson. 1982. Nitrogen-Inorganic forms. Pages 643-698 in A. L. Page (editor). Methods of soil analysis. ASA-SSSA Publisher.

Killham, K. 1994. Soil Ecology. Cambridge University Press.

King, D., and D. B. Nedwel. 1984. Changes in nitrate reducing community of an anaerobic salt marsh sediment in response to seasonal selection by temperature. J. Gen. Microbiol. 130: 2935-2941.

Kliewer, B. A., and J. W. Gilliam. 1995. Water table management effects on denitrification and nitrous oxide evolution. Soil Science Society of America Journal 59: 1694-1701.

Knowles, R. 1979. Denitrification, acetylene reduction, and methane metabolism in lake sediment exposed to acetylene. Applied and Environmental Microbiology 38: 486-493.

Knowles, R. 1981a. Denitrification. Pages 480 in A. D. McLaren and G. H. Peterson (editors). Soil Biochemistry. E. Arnold LTD, London, UK.

Knowles, R. 1981b. Denitrification. Ecological Bulletin 33: 315-329.

Knowles, R. 1982. Denitrification. Microbiological Reviews 46: 43-70.

Kölle, W., O. Strebel, and J. Böttcher. 1985. Formation of sulphate by microbial denitrification in a reducing aquifer. Wat. Supply 3: 35-40.

Koroleff, F. 1972. Simultaneous persulfate oxidation of phosphorus and nitrogen compounds in water. Report of the Baltic Intercalibration Workshop: 52-53.

Kralova, M., P. H. Masscheleyn, C. W. Lindau, and W. H. J. Patrick. 1992. Production of dinitrogen and nitrous oxide in soil suspensions as affected by redox potential. Water, air and Soil Pollution 61: 37-45.

Langner, C. L., and P. F. Hendrix. 1982. Evaluation of persulfate digestion method for particulate nitrogen and phosphorus. Water Research 16: 1451-1454.

Lensi, R., A. Clays-Josserand, and L. Jocteur-Monrozier. 1995. Denitrifiers and denitrifying activity in size fractions of a mollisol under permanent pasture and continuous cultivation. Soil Biology and Biochemistry 27: 61-69.

Linvingston, G. P., and G. L. Hutchinson. 1995. Enclosure-based measurement of trace gas exchange: applications and sources of error. Pages 14-51 in P. A. Matson and R. C. Harriss (editors). Biogenic Trace Gases: Measuring Emissions from Soil and Water. Blackwell Science, Ltd.

Lippold, H., I. Förster, and W. Matzel. 1989. Messung der potentiellen denitrification aktivität in proben von ackerboden unter den temperturbedingungen des wintermonat mit hilfe der 15N gazanalyse. Arch. F. Acer-u. Pflanz. u. Bodenk. 33: 343-348.

Lipschultz, F., O. C. Zafiriou, S. C. Wofsy, M. B. McElroy, F. W. Valois, and S. W. Watson. 1981. Production of NO and N_2O by soil nitrifying bacteria. Nature 294.

Lowrance, R., R. Todd, J. Fail, O. Hendrickson, R. Leonard, and L. Asmussen. 1984a. Riparian forests as nutrient filters in agricultural watersheds. BioScience 34: 374-377.

Lowrance, R. 1992. Groundwater nitrate and denitrification in a coastal plain riparian forest. Journal of Environmental Quality 21: 401-405.

Lowrance, R., G. Vellidis, and R. K. Hubbard. 1995. Denitrification in a restored riparian forest wetland. Journal of Environmental Quality 24: 808-815.

Lowrance, R., L. S. Altier, J. D. Newbold, R. R. Schnabel, P. M. Groffman, J. M. Denver, D. L. Correll, J. W. Gilliam, J. L. Robinson, R. B. Brinsfield, K. W. Staver, W. Lucas, and A. H. Todd. 1997. Water quality functions of riparian forest buffers in Chesapeake Bay watersheds. Environmental Management 21: 687-712.

Lowrance, R. R., R. L. Todd, and L. E. Asmussen. 1984b. Waterborne nutrient budgets for the riparian zone of an agricultural watershed. Agriculture, Ecosystems and Environment 10: 371-384.

Magnusson, T. 1993. Carbon dioxide and methane formation in forest mineral and peat soils during aerobic and anaerobic incubations. Soil Biology and Biochemistry 7: 877-883.

Mariotti, A., J. C. Germon, P. Hubert, P. Kaiser, R. Letolle, A. Tardieux, and P. Tardieux. 1981. Experimental determination of nitrogen kinetic isotope fractionation: some principles; illustration for the denitrification and nitrification processes. Plant and Soil 62: 413-430.

Mariotti, A., F. Mariotti, M. Champigny, N. Amarger, and A. Moyse. 1982. Nitrogen isotope fractionation associated with nitrate reductase activity and uptake of NO_3^- by pearl millet. Plant Physiology 69: 880-884.

Mariotti, A., A. Landreau, and B. Simon. 1988. 15N isotope biogeochemistry and natural denitrification process in groundwater: application to the chalk aquifer of northern France. Geochimica et Cosmochimica Acta 52: 1869-1878.

Mariotti, A. 1994. Natural and induced processes for in-situ denitrification in groundwater: a review. Hydrogeologie 3: 43-68.

Mason, C. F., and R. J. Bryant. 1975. Production, nutrient content and decomposition of Phragmites communis Trin, and Typha augustifolia L. Journal of Ecology 63: 71-95.

McClain, M. E., J. E. Richey, and T. P. Pimentel. 1994. Groundwater nitrate dynamics at the terrestrial-lotic interface of a small catchment in the central Amazon basin. Biogeochemistry 27: 113-127.

McClaugherty, C. A., J. D. Aber, and J. M. Melillo. 1982. The role of fine roots in the organic matter and nitrogen budgets of two forested ecosystems. Ecology 63: 1481-1490.

McGill, W. B., and E. K. Christie. 1983. Biogeochemical aspects of nutrient cycle interactions in soils and organisms. Pages 46-50 in R. B. Bolin and R. B. Cook (editors). The major biological cycles and their interactions. Scope 21. John Wiley and Sons, Chichester, UK.

McKeeney, D. J., K. F. Shuttleworth, and W. I. Findlay. 1980. Temperature dependence of nitrous oxide production Brookston clay. Can. J. Soil Sci. 60: 665-674.

McLatchey, G. P., and K. R. Reddy. 1998. Regulation of organic matter decomposition and nutrient release in a wetland soil. Journal of Environmental Quality 27: 1268-1274.

McMahon, P. B., and J. B. Bohlke. 1996. Denitrification and mixing in a stream - aquifer system: effects on nitrate loading to surface water. Journal of Hydrology 186: 105-128.

Mengis, M., S. L. Schiff, M. Harris, M. C. English, R. Aravena, R. J. Elgood, and A. MacLean. 1999. Multiple geochemical and isotopic approaches for assessing ground water NO3- elimination in a riparian zone. Ground Water 37: 448-457.

Mertes, L. A. K. 1997. Documentation and significance of the perirheic zone on inundated floodplains. Water Resources Research 33: 1749-1762.

Mitsch, W. J. 1991. Estimating primary productivity of forested wetland communities in different hydrologic landscapes. Landscape Ecology 5: 75-92.

Mitsch, W. J., and J. G. Gosselink. 1993. Wetlands (second edition), New York, USA.

Moneron, C. 1999. Processus biogéochimiques et transfert de nutriments à l'interface eau-milieu riverain. Application au cours amont de l'Essonne. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale des Ponts et Chaussées.

Montgomery, E., M. S. Coyne, and G. W. Thomas. 1996. Denitrification can cause variable NO_3^- concentrations in shallow groundwater. Soil Science 162: 148-156.

Mulholland, P. J. 1992. Regulation of nutrient concentrations in a temperate forest stream: roles of upland, riparian, and in-stream processes. Limnology and Oceanography 37: 1512-1526.

Mulholland, P. J. 1993. Hydrometric and stream chemistry evidence of three storm flowpaths in Walker Branch watershed. Journal of Hydrology 151: 291-316.

Murphy, J., and J. P. Riley. 1962a. Determination of phosphate in natural water. Annals Chemicta Acta 27: 31-36.

Murphy, J., and J. P. Riley. 1962b. A modified single-solution method for the determination of phosphate in natural waters. Anal. Chim. Acta.: 27-31.

Nadelhoffer, K. J., and B. Fry. 1994. Nitrogen isotope studies in forest ecosystems. Pages 22-44 in K. Lathja and R. H. Michener (editors). Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Naiman, R. J., and H. Decamps. 1997. The ecology of interfaces: riparian zones. Annual Review of Ecology and Systematics 28: 621-658.

Nelson, L. M., and R. Knowles. 1978. Effect of oxygen and nitrate on nitrogen fixation and denitrification by azospirillum brasilense grown in continuous culture. Canadian Journal of Microbiology 24: 1395-1403.

Nelson, W. M., A. J. Gold, and P. M. Groffman. 1995. Spatial and temporal variation in groundwater nitrate removal in a riparian forest. Journal of Environmental Quality 24: 691-699.

Newbold, J. D., J. W. Elwood, R. V. O'Neill, and W. Van Winkle. 1981. Measuring nutrient spiralling in streams. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 38: 860-863.

Nommik, H. 1956. Investigation on denitrification in soil. Acta. Agric. Scand. 6: 195-228.

Novotny, V., and H. Olem. 1995. Water quality prevention, identification, and management of diffuse pollution.: 861-979.

Obenhuber, D. C., and R. Lowrance. 1991. Reduction of nitrate in aquifer microcosms by carbon additions. Journal of Environmental Quality 20: 255-258.

Omernick, J. M., A. R. Abernathy, and L. M. Male. 1981. Stream nutrient levels and proximity of agricultural watershed: observations on the role of a riparian forest. Journal of Soil and Water Conservation: 227-231.

Oorschot, M. M. P. v. 1994. Plant production, nutrient uptake and mineralisation in river marginal wetlands: the impact of nutrient additions due to former land-use. Pages 133-

150 in W. J. Mitsch (editor). Global Wetlands: Old World and New. Elsevier Science BV, New York, USA.

Osborne, L. L., and D. A. Kovacic. 1993. Riparian vegetated buffer strips in water quality restoration and stream management. Freshwater Biology 29: 243-258.

Ottow, J. G. G., I. Burth-Gebauer, and M. E. E. Demerdash. 1985. Influence of pH and partial oxygen pressure on the N2O-N to N2 ratio of denitrification. Pages 101-120 in H. L. Golterman (editor). Denitrification in the Nitrogen Cycle. Plenum Press, New York, USA.

Ovington, J. D., and G. Murray. 1964. Determination of acorn fall. Q. J. For. 58: 152-159.

Page, H. M. 1995. Variation in the natural abundance of ^{15}N in the halophyte, *Salicornia virginica*, associated with groundwater subsidies of nitrogen in a southern California salt-marsh. Oecologia 104: 181-188.

Parkin, T. B. 1987. Soil microsites as a source of denitrification variability. Soil Science Society of America Journal 51: 1194-1199.

Parnas, H. 1975. Model for decomposition of organic material by microorganisms. Soil Biology and Biochemistry 7: 161-169.

Parry, S., P. Renault, C. Chenu, and R. Lensi. 1999. Denitrification in pasture and cropped soil clods as affected by pore space structure. Soil Biology and Biochemistry 31: 493-501.

Pastor, J., M. A. Stillwell, and D. Tilman. 1987. Nitrogen mineralization and nitrification in four Minnesota old fields. Oecologia 71: 481-485.

Patrick, W. H., and M. E. Tusneem. 1972. Nitrogen loss from flooded soils. Ecology 53: 735-737.

Paul, E. A., and F. E. Clark. 1996. Soil Microbiology and Biochemistry (second edition). Academic Press.

Peterjohn, W. T., and D. L. Correll. 1984. Nutrient dynamics in an agricultural watershed: Observations on the role of a riparian forest. Ecology 65: 1466-1475.

Peterjohn, W. T., and D. L. Correll. 1986. The effect of riparian forest on volume and chemical composition of baseflow in an agricultural watershed. Pages 244-262 in Watershed research Perspectives. Smithsonian Inst. Press.

Peterson, D. L., and G. L. Rolfe. 1982. Seasonal variations in nutrients of floodplain and upland forest soils of Central Illinois. Soil Science Society of America Journal 46: 1310-1315.

Phillips, P. J., J. M. Denver, R. J. Shedlock, and P. A. Hamilton. 1993. Effect of forested wetlands on nitrate concentrations in groundwater and surface water on the Delmarva Peninsula. Wetlands 13: 75-83.

Pichitony, F., and L. d'Ornano. 1961. Sur le mécanisme de l'inhibition par l'oxygène de la dénitrification bactérienne. Biochim. Biophys. Acta (Amst.). 52: 386-389.

Pichitony, F. 1965. L'effet oxygène de la biosynthèse des enzymes d'oxydoréduction bactériens. Pages 507-520 in C.N.R.S. (editor). Mécanismes de régulation des activités cellulaires chez les micro-organismes.

Pinay, G., and L. Labroue. 1986. Une station d'épuration naturelle des nitrates transportés dans les nappes alluviales: l'aulnaie glutineuse. C. R. de l'Acad. Des SC. Paris. 302 III: 629-632.

Pinay, G., and H. Décamps. 1988. The role of riparian woods in regulating nitrogen fluxes between the alluvial aquifer and surface water: A conceptual model. Regulated Rivers 2: 507-516.

Pinay, G., H. Decamps, C. Arles, and M. Lacassin-Seres. 1989. Topographic influence on carbon and nitrogen dynamics in riverine woods. Archiv für Hydrobiologie 114: 401-414.

Pinay, G., L. Roques, and A. Fabre. 1993. Spatial and temporal patterns of denitrification in a riparian forest. Journal of Applied Ecology 30: 581-591.

Pinay, G., C. Ruffinoni, and A. Fabre. 1995. Nitrogen cycling in two riparian forest soils under different geomorphic conditions. Biogeochemistry 4: 1-21.

Pinay, G., C. Ruffinoni, S. Wondzell, and F. Gazelle. 1998. Change in groundwater nitrate concentration in a large river floodplain: denitrification, uptake, or mixing? Journal of the North American Benthological Society 17: 179-189.

Pinay, G., V. J. Black, A. M. Planty-Tabacchi, B. Gumiero, and H. Décamps. 2000. Geomorphic control of denitrification in large river floodplain soils. Biogeochemistry 30: 9-29.

Pinay, G., J. C. Clément, and H. Décamps. 2001. Le rôle des ripisylves dans la régulation des pollutions diffuses azotées: capacités et limites. Comptes Rendus de l'Académie Française d'Agriculture: sous presse.

Powlson, D. S., P. G. Saffigna, and M. Kragt-Cattair. 1988. Denitrification at suboptimal temperatures in soils from different climatic zones. Soil Biology Biochemistry 20: 719-723.

Reddy, K. R., and W. H. Jr.Patrick. 1975. Effect of alternate aerobic and anaerobic conditions on redox potential, organic matter decomposition and nitrogen loss in a flooded soil. Biology and Biochemistry 7: 87-94.

Reddy, K. R. 1982. Nitrogen cycling in a flooded-soil ecosystem planted to rice (*Orysa sativa L.*). Plant and Soil 67: 209-220.

Reddy, K. R., P. S. C. Rao, and R. E. Jessup. 1982. The effect of carbon mineralisation on denitrification kinetics in mineral and organic soils. Soil Science Society of America Journal 46: 62-68.

Reddy, K. R., and W. H. Jr.Patrick. 1984. Nitrogen transformations and loss in flooded soils and sediments. CRC critical reviews in environmental control 13: 273-309.

Reddy, K. R., W. H. Jr.Patrick, and C. W. Lindau. 1989. Nitrification at the plant-root sediment interface in wetlands. Limnol. Oceangr. 34: 1004-1013.

Regimbeau, C. 1999. Typologies et fonctionnement de zones humides de fonds de vallée en Ille-et-Vilaine (Bretagne). Doctorat. Université de Rennes 1, Rennes, France.

Ryden, J. C. 1983. Denitrification loss from a grassland soil in the field receiving different rates of nitrogen as ammonium nitrate. Journal of Soil Science 34: 355-365.

Schipper, L., and M. Volvodic-Vukovic. 1998. Nitrate removal from groundwater using a denitrification wall amended with sawdust: field trial. Journal of Environmental Quality 27: 664-668.

Schipper, L. A., A. B. Cooper, C. G. Harfoot, and W. J. Dyck. 1993. Regulators of denitrification in an organic riparian soil. Soil Biology & Biochemistry 25: 925-933.

Schlosser, I. J., and I. R. Karr. 1981. Water quality in agricultural watersheds: impact of riparian vegetation during base flow. Wat. Res. Bull. 17: 233-240.

Schnabel, R. R., L. F. Cornish, W. L. Stout, and J. A. Shaffer. 1996. Denitrification in a grassed and a wooded, valley and ridge, riparian ecotone. Journal of Environmental Quality 25: 1230-1235.

Seitzinger, S. P. 1994. Linkages between organic matter mineralisation and denitrification in eight riparian wetlands. Biogeochemistry 25: 19-39.

Sextone, A. J., N. P. Revsbech, T. B. Parkin, and J. M. Tiedje. 1985. Direct measurement of oxygen profiles and denitrification rates in soil clods. Soil Science Society of America Journal.

Sierra, J., P. Renault, and V. Valles. 1995. Anaerobiosis in saturated soil clods: modelling and experiment. European Journal of Soil Science 46: 519-531.

Sigman, D. M., M. A. Altabet, R. Michener, D. C. McCorkle, B. Fry, and R. M. Holmes. 1997. Natural abundance-level measurement of the nitrogen isotopic composition of oceanic nitrate: an adaptation of the ammonia diffusion method. Marine Chemistry 57: 227-242.

Simmons, R. C., A. J. Gold, and P. M. Groffman. 1992. Nitrate dynamics in riparian forests: groundwater studies. Journal of Environmental Quality 21: 659-665.

Smid, A. E., and E. G. Beauchamp. 1976. Effect of temperature and organic matter on denitrification in soils. Can. J. Soil Sci. 56: 385-391.

Smith, C. J., and P. M. Chalk. 1980. Soil Sci. Soc. Amer. 44: 277.

Smith, K. A. 1980. A model of the extent of the anaerobic zones in aggregated soils, and its potential application to estimates of denitrification. Journal of Soil Science 31: 263-277.

Smith, M. S., and J. M. Tiedje. 1979. Phases of denitrification following oxygen depletion in soil. Soil Biology Biochemistry 11: 261-267.

Smith, R. L., and J. H. Duff. 1988. Denitrification in a sand and gravel aquifer. Applied and Environmental Microbiology 54: 1071-1078.

Smith, R. L., B. L. Howes, and J. H. Duff. 1991. Denitrification in nitrate-contaminated groundwater: occurrence in steep vertical geochemical gradients. Geochimica et Cosmochimica Acta 55: 1815-1825.

Solorzano, L. 1969. Determination of ammonium in natural waters by the phenol hypochlorite method. Limnology and Oceanography 14: 799-801.

Sotomayor, D., and C. W. Rice. 1996. Denitrification in soil profiles beneath grassland and cultivated soils. Soil Science Society of America Journal 60: 1822-1828.

Squillace, P. J. 1996. Observed and simulated movement of bank storage water. Groundwater 34: 121-134.

Stanford, G., S. Dzienia, and R. A. v. d. Pol. 1975b. Effect of temperature on denitrification rate in soils. Soil Science Society of America Journal 39: 867-870.

Starr, R. C., and R. W. Gillham. 1993. Denitrification and organic carbon availability in two aquifers. Ground Water 31: 934-947.

Stewart, M. D., P. D. Bates, D. A. Price, and T. P. Burt. 1998. Modelling the spatial variability in floodplain soil contamination during flood events to improve chemical mass balance estimates. Hydrological Processes 12: 1233-1255.

Strahler, A. N. 1957. Quantitative analysis of watershed geomorphology. Transactions of American Geophysical Union 38: 913-920.

Swift, M. J., O. W. Heal, and J. M. Anderson. 1979. Decomposition in terrestrial ecosystems. Blackwell, Oxford.

Tabbachi, E., D. Correll, R. Hauer, G. Pinay, A. M. Planty-Tabbachi, and R. Wissmar. 1998. Development, maintenance and role of riparian vegetation in the landscape. Freshwater Biology 40: 1-21.

Technicon. 1977. Nitrate and Nitrite in Water and Sea Water. Industrial Method 158-71 WIA, Tarrytown, New York, USA.

Terry, R. E., and J. M. Duxbury. 1985. Acetylene decomposition in soils. Soil Science Society of America Journal 49: 90-94.

Tiedje, J. M. 1982. Denitrification. in A. L. Page, R. H. Miller, and D. R. Keeney (editors). Methods of Soil Analysis. Part 2: Chemical and Microbiological Properties. American Society of Agronomy Inc., Madison, Wisconsin, USA.

Tiedje, J. M. 1988. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. Pages 179-244 in A. J. B. Zehnder (editor). Biology of Anaerobic Microorganisms. John Wiley, New York.

Tiedje, J. M., S. Simkins, and P. M. Groffman. 1989. Perspectives on measurement of denitrification in the field including recommended protocols for acetylene based methods. Pages 217-240 in M. Clarholm and L. Bergstrom (editors). Ecology of Arable Land. Kluwer Academic Publishers.

VanRaalte, C. D., and D. G. Patriquin. 1979. Use of the " acetylene blockage" technique for assaying denitrification in a salt marsh. Marine Biology 52: 315-320.

Verchot, L. V., E. C. Franklin, and J. W. Gilliam. 1997. Nitrogen cycling in piedmont vegetated filter zones: II. Subsurface nitrate removal. Journal of Environmental Quality 26: 337-347.

Verhoeven, J. T. A., D. F. Whigham, M. v. Kerkhoven, J. O'Neill, and E. Maltby. 1994. Comparative study of nutrient related processes in geographically separated wetlands: towards a science base for functional assessment procedures. Pages 133-150 in W. J. Mitsch (editor). Global Wetlands: Old World and New. Elsevier Science BV, New York, USA.

Vincent, W. F., and M. T. Downes. 1980. Variation in nutrient removal from a stream by watercress (Nasturtium officinale R. Br.). Aquatic Botany 9: 221-235.

Vitousek, P. M. 1994. Beyond global warming: ecology and global change. Ecology 75: 1861-1876.

Vitousek, P. M., H. A. Mooney, J. Lubchenco, and J. M. Melillo. 1997. Human domination of earth's ecosystems. Science 277: 494-499.

Waddington, J. M., N. T. Roulet, and A. R. Hill. 1993. Runoff mechanism in a forested groundwater discharge swamp. Journal of Environmental Quality 25: 743-755.

Walter, H. M., D. R. Keeney, and I. R. Fillery. 1979. Inhibition of nitrification by acetylene. Soil Science Society of America Journal 43: 195-196.

Waring, S. A., and J. M. Bremner. 1964. Ammonium production in soil under waterlogged conditions as an index of nitrogen availability. Nature 201: 951-952.

Weier, K. L., and I. C. McRae. 1992. Denitrifying bacteria in the profile of a brigalow clay soil beneath a permanent pasture and cultivated crop. Soil Biology Biochemistry 24: 919-923.

Weier, K. L., I. C. McRae, and R. J. K. Myers. 1993. Denitrification in a clay soil under permanent pasture and annual crop: estimation of potential losses using intact soil cores. Soil Biology and Biochemistry 25: 991-997.

Whigham, D. F., C. Chitterling, B. Palmer, and J. O'Neill. 1986. Modification of runoff from upland watersheds: the influence of a diverse riparian ecosystem. Pages 305-332 in D. L. Correll (editor). Watershed Research Perspectives. Smithsonian Inst. Press.

Whittaker, R. H., and G. M. Woodwell. 1968. Dimension and production relations of trees and shrubs in the Brookhaven forest, New York. J. of Ecology 56: 1-25.

Wit, R. d. 1995. Measurements of sedimentary gradients of pore water species by use of microelectrodes. Calculation of microbial metabolic processes in the sediments. Océanis 21: 287-297.

Yoshinari, T., and R. Knowles. 1976. Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction by denitrifying bacteria. Biochemical and Biophysical Research Communications 69: 705-710.

Zak, D. R., and D. F. Grigal. 1991. Nitrogen mineralization, nitrification and denitrification in upland and wetland ecosystems. Oecologia 88: 189-196.