

Thèse pour le doctorat de l'Université des Antilles

École doctorale Milieu insulaire tropical à risques : protection,
valorisation, santé et développement (ED 589)

Spécialité Sciences de l'environnement

Présentée par Tocny Jennifer

Réactivité des sédiments anoxiques de mangrove marine vis-à-vis du cycle biogéochimique de l'azote

Influence du tapis microbien de *Beggiatoaceae* et interactions
entre les cycles biogéochimiques de l'azote, du soufre et du
carbone

Sous la direction Olivier Gros, Professeur

Co-encadrée par Anniét Laverman HDR Chargée de recherche CNRS

et Mathieu Sébilo MCF-HDR Sorbonne Université

Soutenue le ... septembre 2021 à Pointe à Pitre, Guadeloupe

Jury

Lucie Pastor	Chargée de recherche, HDR, Ifremer	Ifremer	Rapporteur
Rémy Guyoneaud	Professeur, Université de Pau	UMR IPREM 5254	Rapporteur
Céline Dessert	Chargée de recherche, Institut de Physique du Globe de Paris	OBSERA	Examinatrice
Dominique Monti	Professeur, Université des Antilles	UMR ISYEB	Examinatrice
Sarra Gaspard	Professeur, Université des Antilles	EA COVACHIM-M2E	Examinatrice
Anniét Laverman	Chargée de recherches, HDR, Université de Rennes	CNRS	Co-directrice
Mathieu Sebilo	Maitre de conférence, HDR, Sorbonne Université	IEES Paris	Co directeur
Olivier Gros	Professeur, Université des Antilles	UMR ISYEB	Directeur

DEDICACE

À mes enfants,

REMERCIEMENTS

Si l'histoire sans fin était une thèse ce serait la mienne. Ecrire une thèse est bien plus qu'un simple travail de recherche mais une véritable expérience humaine.

Je souhaite tout d'abord remercier les membres du jury d'avoir su trouver le temps pour juger mon travail. Merci à Lucie Pastor et Rémy Guyoneaud pour leur qualité de rapporteurs, ainsi qu'à Céline Dessert, Sarra Gaspard et Dominique Monti pour leur rôle d'examinatrice.

Je remercie particulièrement mes trois encadrants sans qui ce travail n'aurait pas été réalisable. Votre disponibilité, votre accompagnement soutenu malgré la distance pour certains, votre professionnalisme et votre complémentarité ont rendu mon travail possible. Merci d'avoir donné autant de vos personnes pour ma thèse.

Olivier, merci pour ton dévouement et ton investissement. Tous les thésards rêveraient d'avoir un encadrant comme toi, tu sais trouver les mots pour encourager et susciter l'envie. Si je devais retenir deux choses ce serait ta grande connaissance de l'écosystème mangrove mais surtout ton optimisme avec ton leitmotiv « Pa flipé ». Anniet merci pour ton exigence, ta grande implication, ta réactivité, tes précieux conseils et tes coups de pieds aux fesses qui ont été indispensables. Mathieu merci pour ton soutien et ta confiance. C'est grâce à toi que j'ai pu me lancer dans cette aventure qui fait désormais partie intégrante de moi. Je vous suis reconnaissante de m'avoir poussée dans mes retranchements et vous remercie de votre indulgence vis-à-vis de moi. Je n'ai pas été une thésarde dont vous rêviez et cela n'a pas dû être facile pour vous de m'encadrer, mais bonne nouvelle : vous allez enfin être débarrassés de moi !

Je remercie chaleureusement Patrick Jean-Louis qui m'a aidé à mettre en place mes protocoles, merci pour ta bonne humeur et ta bienveillance. Un grand merci à Grégory Legrave de l'Institut Pasteur de la Guadeloupe pour les litres et les litres et les litres d'eau ultrapure indispensables à mes expériences. Je tiens aussi à remercier Véronique Vaury pour son aide précieuse sur les analyses isotopiques.

Merci à l'ensemble des membres du laboratoire de biologie marine de l'Université des Antilles en particulier à Sébastien, Malika, Jean-Marie, Nathalie et Pierre-Yves. Bien que nous n'ayons pas forcément travaillé ensemble, les nombreux déjeuners partagés avec vous et les échanges sur divers sujets ont égaillé mes journées.

Que serait une thèse sans ses compagnons de galère ? Aurélie, Aurélien et Francesca je suis désolée de vous le dire mais nous sommes unis pour la vie. Aurélie et Frances, mes copinettes merci d'avoir été là pour moi et de l'être toujours. Merci à mes deux « P », Pauline et Pavla. Même à distance vous avez su me botter le derrière pour que je ne lâche pas. Pavla merci d'avoir tenté de me transmettre ton amour de la science durant tes vacances studieuses. Vous avez toutes été présentes dans les moments de doute comme les moments de joie. Je suis trop contente d'avoir été entourée par des femmes aussi belles que brillantes. A défaut d'avoir révolutionner la science, cette thèse m'a permis de faire votre connaissance et vous faites désormais partie de ma famille. Aurélien merci d'être toi pas besoin d'en dire plus. Je remercie aussi Stelly et Marjorie qui ont tenu le bureau officiel des plaintes et des lamentations. Merci pour votre patience vos précieux conseils, votre soutien et votre oreille attentive.

Je termine en remerciant ma famille. Maman merci à toi d'avoir fait de moi la femme que je suis. Celle qui ne lâche pas prise malgré l'adversité. Une mention spéciale à toi Andrew, tu mérites une médaille d'or pour avoir supporté ma mauvaise humeur mes sempiternelles remises en question quotidiennes. Tu crois en moi plus que moi-même et cela me donne la force d'avancer. Merci d'avoir été à mes côtés, de m'avoir épaulée dans les périodes de stress et de t'être occupé comme un chef de notre petit bonhomme et de notre princesse, je t'aime.

AVANT-PROPOS

Soutenue par une bourse ministérielle, cette thèse de doctorat a été menée au sein du laboratoire de Biologie Marine de l'Université des Antilles. UMR 7205 MNHN CNRS-Sorbonne Université -UA « Institut de Systématique, Évolution, Biodiversité » dans l'équipe Biologie de la Mangrove.

UFR Sciences Exactes et Naturelles (SEN), Département de Biologie

BP 592, F-97159 Pointe-à-Pitre cedex, Guadeloupe, France

Tél: 05 90 48 30 06 ; Fax : 05 90 48 32 81



En collaboration active avec UMR 6553 ECOBIO de l'Université de Rennes et l'Institut d'Écologie et des Sciences de l'Environnement de Paris.

UMR 6553 ECOBIO

263 avenue du Général Leclerc,

Bat 14A pièce 126/1

35042 RENNES Cedex



Institut d'Écologie et d'Environnement de Paris (IEES Paris)

Tour 56/66 4^{ème} étage Case courrier 237

4 place Jussieu

75005 Paris



Ce travail de thèse a bénéficié du soutien financier de l'Office de l'eau de la Guadeloupe et de la Mairie de Morne-à-l'Eau.

RESUME / ABSTRACT

Les impacts causés par l'augmentation des quantités d'azote anthropique sur les écosystèmes côtiers font de la compréhension de son cycle biogéochimique un enjeu environnemental majeur. Peu d'études ont été menées sur les sédiments anoxiques de mangroves en milieu marin. Les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse mettent l'accent sur la capacité des sédiments de mangroves riches en matière organique à recycler les nutriments inorganiques lors de la décomposition de la litière en dépit de leur déficience en éléments nutritifs (concentrations en nitrate $[\text{NO}_3^-]$ et nitrite $[\text{NO}_2^-] < 5\text{mM}$; concentration en ammonium $163 < [\text{NH}_4^+] < 1127 \mu\text{M}$). L'étude de la dégradation de la matière organique sur le site de la Manche à Eau a permis de souligner les différences de réactivité entre les sédiments présents sous le tapis microbien de *Beggiatoaceae* (ST) et ceux présents hors de ce tapis (HT). Les processus de sulfato-réduction et de minéralisation de l'azote sont plus importants dans les sédiments ST. Le taux potentiel maximal de réduction de nitrate de $1625,6 \text{ nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$, obtenu dans les sédiments étudiés et pour les conditions imposées traduit leur aptitude à agir comme un puit pour cet élément. Les taux de réduction dépendent des paramètres environnementaux propres à chaque zone. Les résultats obtenus montrent que l'élimination du nitrate dans les sédiments étudiés est favorisée par l'augmentation des concentrations en nitrate fournies, de la disponibilité du carbone assimilable, du temps de contact entre les sédiments et le substrat ainsi que par la présence du tapis microbien. L'analyse des taux de réduction du nitrate conjuguée à la production d'ammonium et à la minéralisation de l'azote dans les sédiments ST suggère que la réduction dissimilative du nitrate en ammonium (DNRA) serait la voie microbienne préférentielle d'élimination du nitrate. L'ensemble des résultats obtenus dans le cadre de cette thèse laissent supposer que le développement de solutions d'ingénierie écologique associé à l'acquisition de connaissances relatives au fonctionnement global des écosystèmes de mangrove peuvent aboutir à l'identification de sites préférentiels de recyclage des composés azotés.

Mots clés : Azote, *Beggiatoaceae*, DNRA, mangrove, matière organique, minéralisation, réduction du nitrate.

Reactivity of anoxic marine mangrove sediments to the biogeochemical cycling of nitrogen

Influence of the *Beggiatoaceae* microbial mat and interactions between the biogeochemical cycles of nitrogen, sulfur and carbon.

The increasing quantities of anthropogenic nitrogen in coastal ecosystems are impactful and make the understanding of its biogeochemical cycle a major environmental issue. However, few studies have been carried out on anoxic mangrove sediments in the marine environment. The results obtained within the framework of this thesis emphasize the capacity of these mangrove sediments rich in organic matter to recycle inorganic nutrients during the decomposition of the litter, despite their inherent deficiency in nutrients (nitrate concentrations $[\text{NO}_3^-]$ and nitrite $[\text{NO}_2^-] < 5\text{mM}$; ammonium concentration $163 < [\text{NH}_4^+] < 1127 \mu\text{M}$). The study of the degradation of organic matter in Manche à Eau made it possible to emphasize the differences in reactivity between the sediments under the microbial mat of *Beggiatoaceae* (ST) and those above the mat (HT). The sulphate reduction and nitrogen mineralization processes showed to be more important in ST sediments. The maximum potential of nitrate reduction rate of $1625.6 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ obtained in the sediments with imposed conditions reflects their ability to act as one for this element. The reduction rates depend on the environmental parameters specific to each zone. This elimination is favoured by the increase in supplied nitrate concentrations, the availability of assimilable carbon, the contact time between the sediments and the substrate, as well as by the presence of the microbial mat. Analysis of nitrate reduction rates combined with ammonium production and nitrogen mineralization in ST sediments suggests that DNRA is the preferred microbial pathway for nitrate elimination. The results obtained within the framework of this thesis suggest that the development of so-called ecological engineering solutions through the acquisition of knowledge on the overall functioning of mangrove ecosystems can lead to the identification of preferential recycling sites for nitrogen compounds.

TABLE DE MATIERE

1	INTRODUCTION GENERALE	26
1.1	ÉTAT DE L'ART.....	26
1.1.1	<i>Généralités sur les mangroves.....</i>	<i>26</i>
1.1.1.1	Définition et répartition.....	26
1.1.1.2	Fonctionnement et structuration	27
1.1.1.3	Les services écosystémiques.....	30
1.1.1.4	Anthropisation disparition	31
1.1.2	<i>Les cycles biogéochimiques.....</i>	<i>33</i>
1.1.2.1	Recyclage des nutriments	34
1.1.2.2	Dégradation de la matière organique dans les sédiments de mangrove : le cycle du carbone.....	40
1.1.2.2.1	Origine et composition de la matière organique.....	40
1.1.2.2.2	Devenir de la matière organique	42
1.1.2.3	Cycle du soufre	44
1.1.2.3.1	Généralités	44
1.1.2.3.2	La réduction du sulfate en sulfure.....	45
1.1.2.3.3	L'oxydation des sulfures	46
1.1.2.3.4	La disproportionation ou dismutation.....	47
1.1.2.4	Cycle de l'azote	48
1.1.2.4.1	Généralités	48
1.1.2.4.2	La minéralisation de la matière organique azoté	49
1.1.2.4.2.1	Dénitrification	49
1.1.2.4.2.2	Réduction dissimilative du nitrate en ammonium ou DNRA.....	50
1.1.2.4.2.3	Anammox.....	52
1.1.2.4.2.4	Le couplage entre les cycles.....	54
1.2	CADRE DE L'ETUDE.....	56
1.2.1	<i>Les mangroves en Guadeloupe.....</i>	<i>57</i>
1.2.2	<i>Les sites d'étude.....</i>	<i>59</i>
1.2.2.1	La Manche-à-Eau	59
1.2.2.1.1	Description du site d'étude	59
1.2.2.1.2	Originalité : le tapis microbien de <i>Beggiatoaceae</i>	61
1.2.2.1.2.1	Description du tapis microbien	61
1.2.2.1.2.2	Fonctionnement du tapis microbien.....	64
1.2.2.2	Le canal des Rotours	66
1.2.2.2.1	Description du site d'étude	66
1.2.2.2.2	Originalité : de la station d'épuration en milieu urbain vers un milieu naturel	67
1.2.3	<i>Organisation et objectifs du travail de thèse.....</i>	<i>71</i>
2	MATERIELS ET METHODES	74
2.1	PRELEVEMENT ET TRAITEMENT DES ECHANTILLONS.....	74

2.1.1	<i>Sédiments, eaux porales et eau de surface</i>	74
2.1.2	<i>Tapis microbien</i>	77
2.1.3	<i>Feuilles de palétuviers</i>	78
2.1.4	<i>Préparation des échantillons pour les analyses isotopiques ($\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$)</i>	78
2.2	PROFILS DE CONCENTRATION DES ELEMENTS NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , SO_4^{2-} , O_2 ET H_2S	79
2.3	MESURE DES FLUX	79
2.4	MESURE DES TAUX DE PRODUCTION ET D'ELIMINATION DES ELEMENTS ETUDIES	80
2.4.1	<i>Réacteurs à flux continu</i>	80
2.4.1.1	Mesure de la réduction du nitrate : DNRA, dénitrification et influence du tapis microbien	84
2.4.1.2	Mesure de la sulfato-réduction	84
2.4.1.3	Réduction du nitrate et influence du débit, de la quantité de carbone et du couvert végétal	85
2.4.2	<i>Batch : mesure de la minéralisation</i>	88
2.5	ANALYSES PHYSIQUES ET CHIMIQUES	90
2.5.1	<i>Microscopie électronique à balayage, analyse par dispersion des rayons X (MEB-EDX)</i>	90
2.5.2	<i>Porosité</i>	90
2.5.3	<i>Teneur en Corg N org CN</i>	90
2.5.4	<i>Salinité et pH</i>	91
2.5.5	<i>Sondes</i>	91
2.5.5.1	Concentrations en N_2O et O_2	91
2.5.6	<i>Dosages</i>	91
2.5.6.1	Nitrate et nitrite.....	92
2.5.6.2	Ammonium	92
2.5.6.3	Sulfate.....	93
2.5.6.4	Sulfures	93
2.5.7	<i>Isotopes</i>	93

3 CARACTERISATION BIOGEOCHIMIQUE DES SEDIMENTS SOUS TAPIS MICROBIEN (ST) ET DES SEDIMENTS HORS TAPIS MICROBIEN (HT) SUR LE SITE DE LA MANCHE-A-EAU : REACTIVITE DES SEDIMENTS95

3.1	RESULTATS ET DISCUSSION.....	97
3.1.1	<i>Caractéristiques des sédiments sur les sites d'échantillonnage</i>	98
3.1.2	<i>Les sources de la matière organique</i>	106
3.1.3	<i>Les sulfates et sulfures libres dissous</i>	108
3.1.3.1	Profils sulfate et sulfures	108
3.1.3.2	Taux de sulfato-réduction.....	109
3.1.4	<i>Les espèces azotées : nitrate, nitrite et ammonium</i>	112
3.1.4.1	Profils espèces azotées	112
3.1.4.2	Taux de minéralisation.....	114
3.1.4.3	Étude des flux d'ammonium sédiment-colonne d'eau	119
3.1.5	<i>Interaction entre les cycles de N et de S</i>	120
3.2	CONCLUSION	121

4 CARACTERISATION DES PROCESSUS D'ELIMINATION DU NITRATE ET INFLUENCE DU TAPIS MICROBIEN DANS LES SEDIMENTS DE LA MANCHE-A-EAU 123

4.1	RESULTATS ET DISCUSSION.....	126
4.1.1	<i>Taux de réduction de nitrate ST et HT.....</i>	126
4.1.2	<i>Influence du tapis microbien sur la réduction du nitrate</i>	129
4.1.2.1	Caractéristiques des matrices incubées.....	130
4.1.2.2	Taux de réduction du nitrate	131
4.1.2.3	Influence du traitement sur les taux de réduction du nitrate	134
4.1.2.3.1	Paramètres cinétiques.....	135
4.1.2.3.2	Pourcentage d'élimination	136
4.1.3	<i>Effet de l'addition de nitrate sur les taux de production du nitrite et de l'ammonium : indication sur les voies d'élimination du nitrate</i>	137
4.1.4	<i>Hypothèses sur les voies d'élimination</i>	142
4.1.4.1	Étude du rapport APR/NRR.....	142
4.1.4.2	Détermination des différentes voies de réduction des nitrates	144
4.1.4.3	Minéralisation de l'azote, DNRA et dénitrification	146
4.1.5	<i>Traçage isotopique</i>	147
4.1.5.1	Evolution $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ et $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ au cours des expériences	147
4.1.5.2	DNRA versus minéralisation	151
4.1.5.3	Fractionnement isotopique	152
4.2	CONCLUSION	153

5 DYNAMIQUE BIOGEOCHIMIQUE DU SEDIMENT DE MANGROVE MARINE: ETUDE DE LA DISPONIBILITE DU NITRATE, DU CARBONE ET DU TEMPS DE CONTACT EAU /SEDIMENT SUR LA REACTIVITE DU SEDIMENT.

155

5.1	INTRODUCTION	155
5.2	MATERIELS ET METHODES	156
5.3	RESULTATS ET DISCUSSION.....	158
5.3.1	<i>Caractéristiques des différentes stations de prélèvement</i>	158
5.3.1.1	Caractéristiques de la colonne d'eau.....	158
5.3.1.2	Caractéristiques du sédiment	160
5.3.2	<i>Effet de l'ajout de nitrate sur les taux de réduction du nitrate potentiel du sédiment de mangrove ; variations des potentiels en fonction de la charge entrante.....</i>	166
5.3.2.1	Production du nitrite et de l'ammonium	172
5.3.2.2	Cinétiques de réduction potentielle maximale du nitrate.....	173
5.3.3	<i>Effet de l'influence du débit sur les taux potentiels de réduction de nitrate.....</i>	178
5.3.4	<i>Effet de différentes sources de carbone sur les taux potentiels de réduction de nitrate</i>	181
5.3.4.1	Caractéristiques des sédiments et des feuilles de palétuvier incubés.....	182
5.3.4.2	Effet de l'ajout des feuilles de palétuvier et du carbone organique dissout sur l'élimination du nitrate	

183

5.3.5	<i>Effet de la saison sur les taux de réduction de nitrate</i>	187
5.3.6	<i>Optimisation des taux de réduction du nitrate par les sédiments de mangrove</i>	188
5.4	CONCLUSION	192
6	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	194
6.1	OBJECTIFS, SYNTHÈSE DE L'ÉTUDE ET CONCLUSIONS PRINCIPALES	194
6.1.1	<i>La réactivité des sédiments (Manche à Eau)</i>	195
6.1.2	<i>Caractérisation des processus d'élimination du nitrate</i>	196
6.1.3	<i>La réduction du nitrate et l'ingénierie écologique</i>	197
6.1.4	<i>Réactivité des sédiments et fonctionnement de l'écosystème</i>	199
6.2	PERSPECTIVES ET RECOMMANDATION POUR LA RECHERCHE FUTURE	201
6.2.1	<i>Les autres processus envisageables</i>	201
6.2.2	<i>Caractérisation fine du microbiome</i>	202
6.2.3	<i>La modélisation</i>	203
6.2.4	<i>Bioremédiation et applications</i>	204
7	BIBLIOGRAPHIE	207

ABRÉVIATION ET ACRONYMES

%	Pourcent
‰	Pour mille
C	Carbone
C ₂ H ₂	Acétylène
Cd	Cadmium
CH ₄	Méthane
C _{inorg}	Carbone inorganique
C _{org}	Carbone organique
Cr	Chrome
Cu	Cuivre
DNRA	Réduction dissimilitive du nitrate en ammonium
FAO	Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
Fe	Fer
FeS	Monosulfure de fer
FeS ₂	Pyrite
H ₂ S	Sulfure d'hydrogène
HCl	Acide chlorhydrique
Hg	Mercure
HgCl ₂	Chlorure mercurique
HS ⁻	Ion sulfure d'hydrogène
IRMS	Spectromètre de masse isotopique
K _m	Concentration de demi-saturation
MAE	Manche-à-Eau
Mn	Mn
N	Azote
N ₂	Diazote
N ₂ O	Protoxyde d'azote
Nap	Nitrate réductase dissimilative périplasmique
Nar	Nitrate réductase

N _{as}	Nitrate réductase assimilative cytoplasmique
NH ₃	Ammoniac
NH ₄ ⁺	Ammonium
Ni	Nickel
N _{inorg}	Azote Inorganique
Nir	Nitrite réductase
NO	Oxyde nitrique
NO ₂ ⁻	Nitrite
NO ₃ ⁻	Nitrate
N _{org}	Azote orgnique
NPP	production primaire nette
O ₂	Dioxygène
Pb	Plomb
ppm	Partie par million
R _{max}	Taux maximaux de réduction potentiell
S	Soufre
S ⁰ , S ₈	Soufre élémentaire
S ₂ O ₃ ²⁻	Thiosulfate
S ₄ O ₆ ²⁻	Tétrathionate
SO ₂	Dioxyde de soufre
SO ₃ ²⁻	Sulfite
SO ₄ ²⁻	Sulfate
STEP	Station d'épuration des eaux polluées
Tg	Téragramme
ε ¹⁵ N	Facteur d'enrichissement isotopique

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Aire de répartition des mangroves (en vert) à l'échelle mondiale (Giri et al. 2011)	27
Figure 2 : Emplacement des principales espèces de palétuviers et leurs adaptation morphologiques.....	28
Figure 3: Disciplines impliquées dans la biogéochimie (Pédro 2007)	34
Figure 4 : Schéma des interactions des micro-organismes de mangrove avec les différents compartiments (Holguin <i>et al.</i> 2001).....	36
Figure 5 : Les réactions d'oxydoréduction. Schéma de la respiration hétérotrophe. Basée sur Burgin et Hamilton 2007.	38
Figure 6 : Schéma de distribution des accepteurs d'électrons le long d'un profil de sédiment. Modifié de (Moreno 2015).....	38
Figure 7 : Schéma résumant les principaux composants impliqués dans la production primaire des mangroves et estimation de la production primaire nette des palétuviers. Modifié de (Bouillon <i>et al.</i> 2008a).....	42
Figure 8 : Cycle global du soufre dans les sédiments marins (Jørgensen <i>et al.</i> 2019)	47
Figure 9 : Récapitulatif des principaux processus du cycle biogéochimique de l'azote dans les sédiments en anaérobie. Basé sur (Jetten 2008; Kraft <i>et al.</i> 2011; Giblin <i>et al.</i> 2013).....	52
Figure 10 : Hypothétiques voies de contrôle des voies dissimilatives d'élimination du nitrate (Burgin et Hamilton 2007).....	54
Figure 11 : Interactions possibles entre les cycles biogéochimiques de l'azote et du soufre dans les sédiments de mangrove (Rios-Del Toro et Cervantes 2019).....	55
Figure 12 : Illustration des différentes voies possibles d'élimination du nitrate. Les flèches rouges représentent les voies hétérotrophes et les bleues les voies autotrophes (Burgin et Hamilton 2007).....	56
Figure 13 : Localisation de la lagune de la Manche à Eau (Guadeloupe, Géoportail)	60
Figure 14 : Faciès de végétation rencontrés le long du transect « lagune-plaine agricole » autour de la lagune de la Manche à eau. La végétation n'est pas à l'échelle de l'altitude (Mothet 2013).	60
Figure 15 : Photographie du tapis de <i>Beggiatoaceae</i> à proximité d'une racine de palétuvier (Crémière <i>et al.</i> 2017).....	61
Figure 16 : Caractérisation du tapis microbien ; A : Photographie du tapis microbien observé à la loupe binoculaire mettant en évidence les <i>Candidatus Maribeggiatoa</i> sp. (flèche pleine noire ; gros filament blanc), les <i>Candidatus Isobeggiatoa</i> sp. (petite flèche noire ; petit filament	

blanc), *Planktothricoides sp 1* (petite flèche bleue ; filament rose) ; les *Planktothricoides sp 2* (flèche pleine bleue ; filament noir), les *Oscillatoria princeps* (flèche pleine blanche ; gros filament vert), et les *Oscillatoria spongelia* (petite flèche blanche ; petit filament vert). **B** : Photographie des filaments de *Candidatus Maribeggiatoa sp.* à droite et de *Candidatus Isobeggiatoa sp.* à gauche observés en microscopie photonique. Les membranes internes sont mises en évidence par les flèches noires, la gangue externe par les flèches blanches et les vacuoles internes par les flèches en pointillés. L'étoile représente l'apex du filament de l'*Isobeggiatoa sp.* (Jean 2013).....64

Figure 17 : Localisation du Canal des Rotours (Guadeloupe.*Géoportail*). Localisation de la station d'épuration (rond rouge). 67

Figure 18 : Localisation du site de prélèvement des sédiments avec tapis microbien et hors tapis dans la lagune de la Manche-à-eau en Guadeloupe (*Géoportail*) 75

Figure 19 : Localisation des sites de prélèvements, Canal des Rotours, Guadeloupe (*Géoportail*) 75

Figure 20 : Photographie d'une carotte prélevée dans les sédiments hors tapis microbien (HT) et d'une carotte prélevée dans les sédiments sous tapis microbien (ST). Photographie de prélèvements d'eaux porales grace au système de Rhizon® 76

Figure 21 : Traitements des échantillons- Protocole pour l'analyse des feuilles, des sédiments et de l'eau porale 77

Figure 22 : Décantation du tapis non trié et remontée des filaments de *Beggiatoaceae* (A). Tri grossier des filaments de *Beggiatoaceae* (B)..... 78

Figure 23 : Protocole de préparation des filtres pour la méthode de la diffusion de l'ammonium (Sebilo *et al.* 2004)..... 79

Figure 24 : Montage des réacteurs à flux continu (gauche) : (1) Solution nourrice, (2) Pompe péristaltique, (3) Réacteurs emballés dans de l'aluminium, (4) Tubes récepteurs en sortie de réacteur. Schéma d'une coupe transversale d'un réacteur à flux continu et vue du haut d'un capuchon (droite) (Pallud *et al.* 2007) 81

Figure 25 : Dispositif expérimental de réacteur à flux continu pour la détermination des taux de réduction du nitrate. basé sur (Mothet *et al.* 2013). Le réacteur contient un volume connu de sédiment ($V=13,85 \text{ cm}^3$). Il est alimenté en continu avec une solution nourrice anoxique qui contient une concentration en nitrate constante $[\text{NO}_3^-]_N$ par une solution anoxique de nitrate de concentration connue, à un débit constant (Q). Les solutions de sortie sont collectées et analysées pour les concentrations en nitrate et les potentiels métabolites produits. Le taux de réduction de nitrate dans le réacteur et obtenu en mesurant la différence entre les concentrations

de la solution nourrice et la solution de sortie (ΔC) une fois que le débit et les concentrations de nitrate sont stabilisées (atteinte de l'état d'équilibre « steady-state »).....	83
Figure 26 : Localisation des sites de prélèvements, Canal des Rotours, Guadeloupe (<i>Géoportail</i>)	85
Figure 27 : Etapes de la mise en place de l'expérience en batch pour les boues.....	88
Figure 28 : Carte de localisation de la lagune la Manche à Eau (Guadeloupe, <i>Géoportail</i>)....	98
Figure 29 : Carottes de sédiment prélevées hors du tapis microbien (gauche) et sous le tapis microbien (droite) sur le site de la Manche à eau en avril 2017.....	99
Figure 30 : Représentation graphique du spectre EDX des sédiments ST (gauche) et des sédiments HT (droite) prélevés entre 0 et 6 cm au niveau de la manche à eau.	101
Figure 31 Profils de pH et de salinité de l'eau poreuse des sédiments sous le tapis microbien ST (cercle) et des sédiments hors du tapis microbien HT (triangle) prélevée dans la Manche à Eau.	105
Figure 32 : Profils $[H_2S]$ et $[SO_4^{2-}]$ dans l'eau poreuse des sédiments sous le tapis microbien ST (cercle) et des sédiments hors du tapis microbien HT (triangle). Pour chaque condition (ST/HT), les carottes ont été prélevées en duplicat les 7 février et 5 avril 2017. Les résultats présentés sont les moyennes des concentrations à ces deux dates avec en barre d'erreur les écart-types (n=4).....	108
Figure 33 : Taux de réduction du sulfate dans les sédiments HT et ST obtenus après incubation en réacteur à flux continu alimenté par une solution nourrice de sulfate en octobre 2013 (noir) et décembre 2015 (gris).	110
Figure 34 : Profils $[NO_3^-]$, $[NO_2^-]$ et $[NH_4^+]$ en μM , dans l'eau poreuse des sédiments sous le tapis microbien ST (cercle) et des sédiments hors du tapis microbien HT (triangle). Pour chaque condition (ST/HT), les carottes ont été prélevées en duplicat les 7 février et 5 avril 2017. Les résultats présentés sont les moyennes des concentrations à ces deux dates avec en barre d'erreur les écart-types (n=4).....	112
Figure 35 : Changement de concentration en ammonium dans les batch après incubation des sédiments HT entre 0 et 4 cm au cours du temps. La pente indique le taux de minéralisation en $\mu M (N-NH_4^+).g^{-1}.h^{-1}$ de sédiment sec. Tableau des taux de minéralisation des deux types de sédiments ST et HT entre 0-4 cm et 12-16 cm de profondeur (n=3).....	115
Figure 36 : Changement de concentration en ammonium dans les eaux interstitielles des sédiments sous le tapis microbien entre 12 et 18 cm au cours du temps récupérées après sacrifice des flasques et centrifugation. La pente indique le taux de minéralisation en $\mu M (N-NH_4^+).j^{-1}$	116

Figure 37 : Évolution des concentrations en nitrate dans les sorties de réacteurs pour les répliques 1 (R1) et 2 (R2) des réacteurs contenant des sédiments hors tapis microbien (HT) et sous tapis microbien (ST) soumis à une solution nourrice de 500 μM de nitrate.	127
Figure 38 : Taux de production ou de réduction mesurés suite à l'incubation des sédiments non triés sous tapis microbien (ST) et hors tapis microbien (HT) en réacteur à flux continu et soumis à deux concentrations de nitrate (500 et 5000 μM). A Réduction NO_3^- B Production NO_2^- C Production NH_4^+ . Les barres d'erreur indiquent les écart-types.....	128
Figure 39 : Taux de réduction du nitrate en fonction des concentrations en nitrate pour les différentes expériences. Les histogrammes pleins correspondent aux expériences pour lesquelles le sédiment a été incubé avec du tapis microbien alors que les vides correspondent aux réacteurs où seul le sédiment ST a été incubé.....	132
Figure 40 : Évolution des taux de réduction de nitrate en fonction des quantités de nitrate introduites dans la solution nourrice calculées à partir des débits, des pas de temps et des concentrations des solutions nourrices pour les traitements de juin, juillet et septembre 2017 et pvalue associées.	134
Figure 41 : Pourcentage d'élimination du nitrate en fonction des concentrations en nitrate de la solution nourrice (de 100 à 5000 μM) en fonction des différentes expériences Histogrammes pleins = sédiments + tapis. Histogramme vide = sédiment seul	137
Figure 42 : Taux de production de nitrite et d'ammonium moyen en fonction des concentrations pour les différentes expériences. Histogramme plein = réacteurs incubés du mélange sédiment tapis. Histogramme vide = réacteurs de sédiments seuls.....	138
Figure 43 : Rapport entre la production d'ammonium (APR) et le taux de réduction du nitrate (NRR) en fonction des concentrations en nitrate fournies par les solutions nourrices pour les différents traitements Histogramme plein = réacteurs incubés du mélange sédiment tapis. Histogramme vide = réacteurs de sédiments seuls	141
Figure 44 Rapport entre la production d'ammonium (APR) et le taux de réduction du nitrate (NRR) en fonction des taux de réduction de nitrate pour les différents traitements. Les symboles vides correspondent aux sédiments qui n'ont pas fait l'objet d'ajout de tapis microbien. La courbe pleine correspond au rapport APR/NRR théorique pour le processus de DNRA, les courbes en pointillés correspondent aux rapports APR/NRR pour la dénitrification complète et incomplète modifié de (Laverman <i>et al.</i> 2006).....	143

Figure 45 Taux de production d'ammonium (APR), de nitrite (NPR), d'oxyde nitreux (N ₂ OPR) et taux de réduction de nitrate (NRR) en fonction des différentes concentrations de nitrate fournies par la solution nourrice, septembre 2017.....	145
Figure 46 : Évolution des quantités de matière de NH ₄ ⁺ en sortie de réacteur en fonction des quantités de matière de NO ₃ ⁻ de la solution nourrice (bleu expérience avec le nitrate enrichi, orange expérience avec le nitrate non marqué).....	150
Figure 47 : Évolution du δ ¹⁵ N-NH ₄ ⁺ en sortie de réacteur en fonction du pourcentage d'élimination du NO ₃ ⁻ pour les sédiments ayant été soumis aux solutions nourrice de 100, 200 et 500 μM (bleu expérience avec le nitrate enrichi, orange expérience avec le nitrate non marqué).	151
Figure 48 : Evolution du δ ¹⁵ N-NH ₄ ⁺ en sortie de réacteur en fonction des quantités de matière de NH ₄ ⁺ en sortie de réacteur (bleu expérience avec le nitrate enrichi, orange expérience avec le nitrate non marqué).	152
Figure 49 : Localisation des stations d'étude. Le long du canal des Rotours (Géoportail) ...	156
Figure 50 : Profils verticaux de salinité depuis l'aval de la STEP (gauche) à l'embouchure (droite), d'après Barbeyron (2014).	157
Figure 51 : Évolution des concentrations en ammonium (ronds), nitrate (carrés) et nitrite (triangles) le long du canal pour les stations 1 (rouge), 2 (bleu), 3 (jaune) et 4 (vert) n=3...	159
Figure 52 : Profils %C, %N, C/N (A), carbone organique dissou COD (B) et contenu en eau des sédiments (C)des stations 1 (rouge), 2 (bleu), 3 (jaune) et 4 (vert) de la STEP à l'embouchure du canal.....	161
Figure 53 : Profils δ ¹³ C, δ ¹⁵ N des sédiments des stations 1 (rouge), 2 (bleu), 3 (jaune) et 4 (vert) de la STEP à l'embouchure du canal.	163
Figure 54 : Origine de la matière organique des sédiments des stations 1 à 4 déterminée en fonction du δ ¹³ C en fonction du rapport C/N (n=2 pour les stations 1,2 et 4 et n=6 pour la station 3 saison humide 2016 et 2017). Les rectangles de couleurs indiquent les gammes de valeurs de δ ¹³ C et C _{org} /N rapportées dans la littérature (Lallier-Verges <i>et al.</i> 1997; Lamb <i>et al.</i> 2006).	164
Figure 55 : Evolution du δ ¹⁵ N en fonction du C/N pour les stations 1 à 4	165
Figure 56 : Évolution des concentrations en nitrate (bleu) nitrite (noir) dans les solutions de sortie de réacteur au cours du temps au niveau de la station de prélèvement 3. Les concentrations des solutions nourrices sont représentées par les lignes en pointillé noir [6000 μM (A) et 1500 μM (B)]. Les valeurs de chaque réacteur (réplica) sont présentées réacteur 1 (triangles) et réacteur 2 (cercles).....	167

Figure 57 : Box-plot de l'effet de l'ajout de nitrate sur les taux de réduction de nitrate déterminés par la méthode des réacteurs à flux continu après l'incubation des sédiments des stations 1 à 4. Dans l'expérience les sédiments ont été soumis à des solutions nourrices de concentrations en nitrate de 0.75, 1.5, 3 et 6 mM. Les boîtes englobent les quartiles supérieur et inférieur. Les points indiquent les valeurs extrêmes tandis que les lignes horizontales correspondent aux valeurs médianes des taux de réduction.	168
Figure 58 : Taux de réduction du nitrate mesurés dans les réacteurs de la station 3 en fonction des concentrations de nitrate fournies par la solution nourrice. La ligne pointillée correspond aux ajustements des taux obtenus par l'expression de Michaelis-Menten avec les taux obtenus expérimentalement. Les barres d'erreur indiquent l'écart-type des taux après que les concentrations de nitrate aient atteint l'état d'équilibre.....	174
Figure 59 : Valeurs des Rmax et Km pour les stations 1 (rouge), 2 (bleu), 3 (jaune) et 4 (vert) de la STEP à l'embouchure du canal.	175
Figure 60 : Box-plot de l'effet de la variation du débit sur les taux de réduction de nitrate (NRR) et les taux de production de nitrite (NiPR) et d'ammonium (APR) déterminés par la méthode des réacteurs à flux continu après l'incubation des sédiments de la station 3.	179
Figure 61 : Pourcentage d'élimination du nitrate en fonction des différents débits. Les barres d'erreur représentent les écart-type sur les moyennes calculées à partir des mesures obtenues pour chaque réplicas au niveau de la station 3.....	181
Figure 62 : Box-plot de l'effet des différentes sources de carbone sur les taux de réduction de nitrate (NRR) et les taux de production de nitrite (NiPR) et d'ammonium (APR) déterminés par la méthode des réacteurs à flux continu après l'incubation des sédiments de la station 3.	185
Figure 63 : Évolution des taux de réduction de nitrate (NRR) et les taux de production de nitrite (NiPR)et d'ammonium (APR) déterminés par la méthode des réacteurs à flux continu après l'incubation des sédiments de la station 3 en novembre 2016, août et octobre 2017.....	187
Figure 64 : Pourcentage d'élimination du nitrate en fonction des concentrations en nitrate (de 0,7 à 6 mM), des débits (de 0,5 à 9,8 ml.h ⁻¹) et les ajouts de carbone (SA sans ajout- A acétate- FV feuilles vertes- FJ feuilles jaunes). Les boites grises/bleues ont subi les mêmes traitements (sédiment seul, solution nourrice à 6 mM et débit de 3 ml.h ⁻¹).	189
Figure 65 : Schéma de principe des réactions étudiées dans le cadre de la thèse dans les sédiments marin en anaérobie.....	200

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Listes des services écosystémiques rendus par les mangrove (Sandilyan et Kathiresan 2012; Kelleway et al. 2017; Giry et al. 2017)	30
Tableau 2 : Liste des menaces qui pèsent sur les mangroves et de leurs impacts potentiels. Basé sur le tableau de (Suman 2019).....	32
Tableau 3 : Degrés d'oxydation du soufre dans les composés soufrés.....	45
Tableau 4 : Degrés d'oxydation des composés azotés.....	48
Tableau 5 : Récapitulatif des constituants présents dans les eaux domestiques (Henze et Comeau 2008).....	69
Tableau 6 : Démarche scientifique et objectifs de la thèse	73
Tableau 7 : Récapitulatif des traitements appliqués dans le cadre des expériences en réacteurs à flux continu et des analyses réalisées sur les différentes matrices.....	84
Tableau 8: Récapitulatif des conditions appliquées aux réacteurs à flux continu pour la détermination de l'influence des concentrations en nitrate, du débit et de la source de carbone sur les taux potentiels de réduction du nitrate.....	87
Tableau 9 : Pourcentage atomique des éléments chimiques identifiés par MEB-EDX dans les sédiments ST et HT entre 0-6 cm et 12-17 cm non décarbonatés prélevés dans la Manche à Eau.	102
Tableau 10: Caractéristiques des sédiments ST et HT non décarbonatés prélevés dans la Manche à Eau.....	102
Tableau 11: Caractéristiques du tapis microbien.....	103
Tableau 12 : Caractéristiques des sédiments, de l'eau porale et du taux de minéralisation pour les sédiments ST et HT.	117
Tableau 13 : Flux d'ammonium à l'interface eau-sédiment dans les sédiments HT et ST n=2	120
Tableau 14 : Caractéristiques des matrices incubées lors des expériences en réacteurs à flux continu avant incubation et caractéristiques du tapis microbien seul.....	130
Tableau 15 Moyenne des taux de réduction de nitrate (NRR) en fonction des différentes concentrations de nitrate fournies par la solution nourrice au sédiment pour chaque réacteur.	133
Tableau 16 : Taux potentiels de réduction max du nitrate à l'équilibre (R_{max}) et les concentrations de demi-saturation (K_m) obtenus par l'expression de Michaelis-Menten à partir des taux obtenus expérimentalement.	135

Tableau 17 Moyenne des taux de production d'ammonium (APR), de nitrite (NPR) et taux de réduction de nitrate (NRR) en fonction des différentes concentrations de nitrate fournies par la solution nourrice au sédiment pour chaque réacteur.....	140
Tableau 18 : Rapport entre la production d'ammonium (APR) et le taux de réduction du nitrate (NRR) en fonction des voies métaboliques (Laverman <i>et al.</i> 2006).....	142
Tableau 19 : Moyenne des taux de production d'ammonium, de nitrite et d'oxyde nitreux, taux de réduction de nitrate, rapport APR/NRR et pourcentage de dénitrification en fonction des différentes concentrations de nitrate fournies par la solution nourrice au sédiment ST, septembre 2017.	146
Tableau 20 : Évaluation des quantités de matière d'ammonium produites par minéralisation dans les réacteurs à flux continu pour les incubations du 16/06/2017 et du 12/07/2017 pour les jours 1 (J1) et deux (J2) des incubations à 5 mM en nitrate à partir du taux de minéralisation obtenu dans les sédiments ST du chapitre 3.	147
Tableau 21: $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ et $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ pour les solutions nourrices et les solutions de sortie de réacteur pour les expériences d'ajout de nitrate de potassium non enrichi (14/06/2017) et enrichi (12/07/2017) par le biais de la solution nourrice.	148
Tableau 22 : Détermination du facteur d'enrichissement isotopique du NO_3^- à partir des résultats obtenus pour les réacteurs soumis à une concentration en nitrate de 5000 μM par la solution nourrice	153
Tableau 23 : Comparaison des concentrations en nitrate, nitrite et ammonium de l'étude avec une série de mesures réalisée en 2014.	158
Tableau 24 : Récapitulatif du traitement subit par les sédiments.	166
Tableau 25 : Moyenne des taux de production d'ammonium et de nitrite et taux de réduction de nitrate pour les quatre stations en fonction des différentes concentrations de nitrate fournies par la solution nourrice au sédiment pour chaque réacteur et carbone organique dissous libéré au cours des incubations.	169
Tableau 26 : Récapitulatif des caractéristiques des sédiments de la Manche à eau (sous et hors tapis microbien) et du Canal des Rotours (station 3).....	171
Tableau 27 : Taux potentiels de réduction max du nitrate obtenus à l'équilibre (R_{max}), taux de réduction de nitrate (NRR) et les concentrations de demi-saturation (K_m) obtenues pour la dénitrification (1) et la réduction de nitrate (2).....	176

Tableau 28 : Moyenne des taux de réduction et de production d'ammonium et de nitrite observés dans les réacteurs contenant les sédiments de la station 3. Dans l'expérience les sédiments ont été soumis à une solution nourrice de concentrations en nitrate de 6 mM. `..	180
Tableau 29 : Caractéristiques des matrices introduites dans les réacteurs pour l'étude de l'effet de l'ajout du carbone sur les taux de réduction de nitrate et caractéristiques des feuilles utilisées pour la réalisation des mélanges feuilles/sédiments (*).....	182
Tableau 30 : Caractéristiques des sédiments incubés. L'ensemble des sédiments a été prélevé au niveau de la station 3 mais à des dates différentes.....	188

LISTE DES EQUATIONS

Equation 1 : Réaction de sulfammox	46
Equation 2 : Réaction de dismutation du soufre	47
Equation 3 : Réaction de dénitrification hétérotrophe	50
Equation 4 : Réaction de DNRA.....	52
Equation 5 : Réaction d'anammox.....	53
Equation 6 : Réaction de DNRA.....	66
Equation 7 : Calcul du taux de réduction et du taux de production par la méthode des réacteurs à flux continu	82
Equation 8 : Expression de l'évaluation des taux de réduction selon l'expression de Michaelis- Menten	83
Equation 9 : Expression de la porosité.....	90

1 Introduction générale

1.1 État de l'art

1.1.1 Généralités sur les mangroves

1.1.1.1 Définition et répartition

Selon la loi sur l'eau de 1992 qui définit les zones humides comme « les terrains, exploités ou non, habituellement inondés ou gorgés d'eau douce, salée ou saumâtre de façon permanente ou temporaire ; la végétation, quand elle existe, y est dominée par des plantes hygrophiles pendant au moins une partie de l'année », les mangroves sont des zones humides à part entière.

Ces écosystèmes sont composés de différentes espèces halophytes ligneuses (Macnae 1969; Alongi 2014) se développant à l'interface entre la terre et la mer aux latitudes tropicales et subtropicales. Elles sont adaptées aux conditions dites extrêmes telles que les fortes salinités, les vents forts, les températures élevées et les sols anoxiques (Lugo et Snedaker 1974; Woodroffe 1992; Kathiresan et Bingham 2001; Sharma 2018).

Écosystèmes tropicaux à haute valeur écologique, les mangroves sont des atouts pour la zone côtière. En influençant directement le développement de la végétation, en améliorant la sédimentation et en contribuant à l'enrichissement organique du sol, les mangroves limitent l'érosion de la côte, enrichissent et protègent la zone côtière face aux aléas climatiques. Les mangroves soutiennent aussi des activités commerciales telles que la pêche et l'exploitation forestière (Kathiresan et Bingham 2001; Lee *et al.* 2014). De plus, les mangroves jouent un rôle majeur dans la limitation des pollutions (Ewel *et al.* 1998; Kathiresan et Bingham 2001; Alongi 2002; Lin et Dushoff 2004; Kelleway *et al.* 2017). En effet, ces 20 dernières années, des études ont démontré que les mangroves sont capables de séquestrer efficacement le carbone, de piéger des éléments chimiques tels que certains nutriments azotés et phosphorés (nitrate, nitrite ammonium, phosphate) et quelques éléments métalliques à l'état de traces (cuivre, zinc, cadmium, manganèse) issus de sources anthropiques (Howarth *et al.* 1996; Alongi 1996; Tam et Wong 1996; Kathiresan et Bingham 2001; Kristensen *et al.* 2008; Donato *et al.* 2011; Alongi 2014; Alongi et Mukhopadhyay 2015; Reis *et al.* 2017b).

Les mangroves sont principalement réparties sur 118 pays et territoires (Figure 1) dans les zones littorales peu profondes (Figure 1). Elles représentent 0,7% des forêts tropicales dans le monde et 15 pays regroupent près de 75% des mangroves mondiales (Giri *et al.* 2011).



Figure 1: Aire de répartition des mangroves (en vert) à l'échelle mondiale (Giri *et al.* 2011)

Il est difficile de se faire une idée précise de l'évolution de la surface des mangroves à l'échelle mondiale. L'estimation des surfaces de mangroves varie d'une publication à l'autre en fonction des méthodes utilisées pour le référencement (échelle et précision des différentes sources) et du manque de données dans certaines parties du globe. Selon l'Atlas mondial des mangroves, la surface occupée par les mangroves représentait 181.077 km² en 1997 alors qu'en 2000 Giri *et al* ont estimé que cette surface était de 137.760 km² (Spalding *et al.* 1997; Giri *et al.* 2011).

1.1.1.2 Fonctionnement et structuration

Les mangroves sont dotées d'une immense richesse floristique spécifique formée par les palétuviers. Le nombre exact d'espèces est encore en discussion et varie entre 50 et 70 espèces réparties selon différentes classifications (FAO 2007; Polidoro *et al.* 2010). Les principales espèces de palétuviers rencontrées à l'échelle mondiale sont le palétuvier rouge (*Rhizophora mangle*), le palétuvier noir (*Avicennia germinans*), le palétuvier blanc (*Laguncularia racemosa*) et le palétuvier gris (*Conocarpus erectus*). En raison de leur environnement, la végétation présente dans les mangroves est tolérante au niveau élevé de sel, aux faibles teneurs d'oxygène du sol et a développé des adaptations. Ces adaptations morphologiques

comprennent les racines latérales qui ancrent les arbres dans le sédiment (racines échasses du genre *Rhizophora*), les racines aériennes exposées pour l'échange de gaz (pneumatophores des genres *Avicennia* et *Laguncularia*) et les propagules vivipares dispersées dans l'eau qui permettent la reproduction (Kathiresan 2004) (Figure 2).

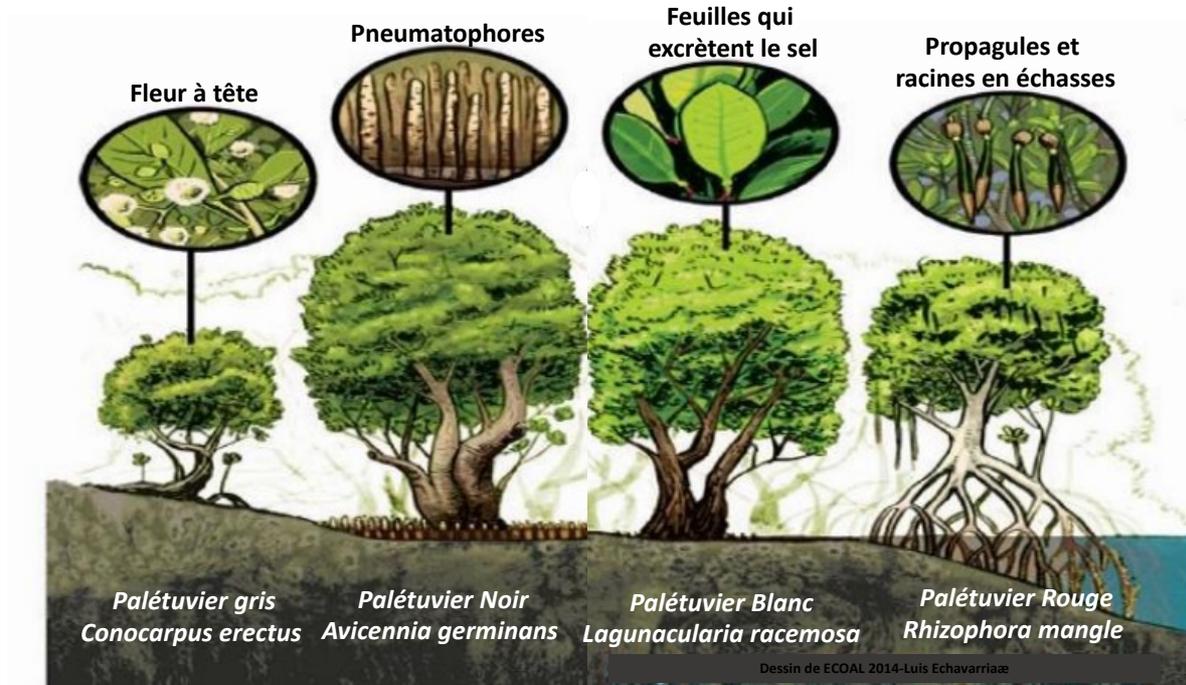


Figure 2 : Emplacement des principales espèces de palétuviers et leurs adaptation morphologiques

De plus, les espèces de palétuviers ont des mécanismes anatomiques qui leur sont spécifiques pour faire face aux fortes salinités. En effet, les palétuviers blancs (*Lagunacularia*) excrètent le sel par des glandes spécialisées au niveau des feuilles alors que les palétuviers rouges (*Rhizophora mangle*) transfèrent le sel vers les feuilles sénescents alors que certaines espèces le stockent dans l'écorce ou les racines (*Rhizophora*, *Sonneretia*, *Avicennia* et *Xylocarpus*). D'autres encore régulent les quantités d'eau qu'ils utilisent en fonction de la salinité (*Laguncularia racemosa*) (Kathiresan et Bingham 2001; Parida et Jha 2010).

Les mangroves s'articulent et fonctionnent grâce aux interactions permanentes entre les compartiments eau, sédiment, faune et flore qui les constituent. Le compartiment sédiment, directement en relation avec les trois autres compartiments est le centre des processus liés à l'activité des micro-organismes. En effet, les palétuviers vont être une source de nourriture pour les micro-organismes présents mais vont aussi affecter les propriétés physico-chimiques des sédiments (Holguin *et al.* 2001; Pramanik *et al.* 2018).

Les sédiments de mangroves sont souvent décrits comme réducteurs, riches en sulfures, hydromorphes, salés et ayant une activité microbiologique importante (Alongi 2005; Jacinthe et Groffman 2006; Lee *et al.* 2008). Ils sont principalement constitués d'un mélange de vase (limon), d'argile, de sable et de matière organique en décomposition (Blasco 1982; Boto *et al.* 1984; Gontharet *et al.* 2017). Cependant il ne faut pas généraliser ces caractéristiques à l'ensemble des sédiments de mangrove car au sein d'une même mangrove la texture du sol et les propriétés physico-chimiques associées peuvent varier considérablement. En effet, plusieurs éléments peuvent influencer la nature des sédiments tels que la distribution du couvert végétal et des racines associées, la topographie locale, la nature géologique du bassin, l'usage du sol à proximité, la température, la pluviométrie ainsi que les processus océaniques et les apports des rivières adjacentes qui modifient la nature des sédiments en impactant entre autre la salinité de l'eau (amplitude et pénétration des marées, débits des cours d'eau...) et la vitesse de sédimentation (Woodroffe 1992; Twilley et Rivera-Monroy 2009).

Les mangroves sont des habitats susceptibles d'attirer de nombreux types d'organismes notamment des bactéries, des champignons, des macroalgues, des mollusques, des insectes, des reptiles, des oiseaux, des poissons, des crabes, des mammifères... (Alongi 2002; Kathiresan 2004; Sandilyan et Kathiresan 2012). Ces espèces vont trouver dans les mangroves les nutriments nécessaires à leur nutrition, des zones de refuge mais aussi des abris pour la reproduction (développement larvaire). Certaines espèces dites ingénieurs telles que les crabes, jouent un rôle important dans le fonctionnement global des mangroves en stimulant la décomposition de la matière organique et en permettant l'aération des sédiments via les bioturbations (Alongi 2005; Kristensen *et al.* 2008; Xiao *et al.* 2018).

Une caractéristique majeure de la structure de la mangrove est la zonation. Cette zonation dépend de nombreux facteurs abiotiques et biotiques qui créent des conditions contrastées pour le développement des mangroves. En d'autres termes, la plupart des mangroves représentent des continuums dont les caractéristiques dépendent de l'altitude, de la fréquence et de la durée de l'inondation, de l'engorgement du substrat, de la distance de l'eau libre, de la température, des marées, de la puissance des vagues, des apports d'eau douce notamment (Lugo et Snedaker 1974; Lugo 1980; Woodroffe 1992; Alongi 2002). La zonation des mangroves se fait par bandes en fonction de la tolérance au stress physiologique, des différences hydrologiques et des variations de productivité des cycles des nutriments (Kathiresan 2004).

1.1.1.3 Les services écosystémiques

Les autorités internationales reconnaissent de plus en plus l'importance des mangroves, tant pour leur valeur esthétique et écologique que pour les avantages économiques apportés par leur exploitation durable. L'ensemble des services rendus par les mangroves contribuent directement ou indirectement au développement sociétal, on parle de services écosystémiques. Chaque type de mangrove fournit des biens et des services différents (Ewel *et al.* 1998). On recense ainsi quatre grands types de services : les services de protection, les services d'approvisionnement, les services culturels et les services de régulation. Le Tableau 1 présente une liste non exhaustive des services écosystémiques rendus par les mangroves à travers le monde (Sandilyan et Kathiresan 2012; Kelleway *et al.* 2017; Kristensen *et al.* 2017; Sharma 2018; Suman 2019).

Tableau 1 : Listes des services écosystémiques rendus par les mangrove (Sandilyan et Kathiresan 2012; Kelleway *et al.* 2017; Giry *et al.* 2017)

Services	Protection	Approvisionnement	Culturel	Régulation
Bénéfices	-Protection contre les tempêtes, les tsunamis et les inondations	- Production halieutique pêche vivrière/commerciale	-Tourisme	-Régulation du climat (flux de biomasse et séquestration du carbone)
	-Habitat pour les espèces	-Ressources génétiques.	-Loisirs	-Séquestration et absorption des polluants provenant de l'agriculture, des déchets industriels, des effluents d'aquaculture...
	-Stabilisation de la zone côtière contre l'érosion	-Plantes médicinales	-Éducation	- Source de nutriments
		-Matières premières (Charbon, bois, colorants)	-Recherche	

Même s'il est difficile d'attribuer une valeur monétaire à tous les biens et services fournis, ces derniers ont une valeur économique et de plus en plus d'études visent à les chiffrer (Costanza *et al.* 1998; Vo *et al.* 2012; Giry *et al.* 2017). En 1998, Costanza *et al.* évaluaient la valeur moyenne des services écosystémiques rendus par les mangroves et les marais à 9900\$ ha⁻¹ an⁻¹ soit environ 8350 euros ha⁻¹ an⁻¹. L'évaluation de ce coût a été réalisée à partir des valeurs monétaires des services écosystémiques liés aux matières premières extractibles, à la protection des côtes, à la lutte contre l'érosion et au maintien de la pêche et du tourisme. À ce jour, il n'existe aucune estimation économique complète des services écosystémiques liée aux transformations biogéochimiques (Barbier *et al.* 2011). Cependant, l'amélioration des connaissances sur la protection contre les tempêtes, le contrôle de l'érosion et le traitement des eaux usées par les mangroves a permis une nette augmentation de l'estimation de la valeur des

services rendus par les mangroves soit une valeur d'environ 172 000 euros ha⁻¹ an⁻¹ (Costanza *et al.* 2014).

1.1.1.4 Anthropisation disparition

Même si les différentes études menées sur l'évaluation des surfaces de mangrove ne donnent pas les mêmes superficies (section 1.1.1.1), toutes s'entendent sur le fait que les zones de mangroves diminuent de jour en jour. Les mangroves sont soumises à des destructions dites naturelles (tempêtes, érosion, réchauffement climatique, montée des eaux...) et d'autres induites par l'homme dites anthropiques (surexploitation, conversion des mangroves pendant l'urbanisation, pollution de l'agriculture et de l'aquaculture, exploitation minière, déversement d'effluents industriels, décharges sauvages...) (Blasco 1982; Alongi 2002; Kathiresan 2004; Duke *et al.* 2007; FAO 2007; Lewis 2009; Giri *et al.* 2011; Sandilyan et Kathiresan 2012; Dale *et al.* 2014; Sharma 2018).

Même si les écosystèmes de mangroves sont clairement identifiés comme des centres importants pour la biodiversité et sont reconnus par la communauté scientifique, les organisations et les autorités environnementales ; les pertes de mangroves restent élevées. Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture environ 35 600 km² de mangrove ont été défrichés ou détruits entre 1980 et 2005 ce qui correspond à 35% de la superficie mondiale des mangroves (Valiela *et al.* 2006). Le tableau 2 présente une liste non exhaustive des menaces et des impacts potentiels qui pèsent sur les mangroves à l'échelle mondiale.

Tableau 2 : Liste des menaces qui pèsent sur les mangroves et de leurs impacts potentiels. Basé sur le tableau de (Suman 2019)

Menaces sur les mangroves	Impacts potentiels
Augmentation de la population	Demande accrue des ressources et pression accrue pour convertir l'espace
Conversion pour d'autres usages (tourisme, aquaculture, ports...)	Perte d'habitat, de biodiversité, de la protection du littoral contre l'érosion, des puits de carbone, des pépinières pour les ressources marines, des ressources éducatives et culturelles...
Pollution de l'eau	Augmentation de la pression exercée sur la faune et la flore
Diminution du débit d'eau	Diminution de l'apport de sédiments pouvant entraîner une érosion accélérée des côtes et l'augmentation de la salinité
Augmentation du niveau de la mer	Érosion accélérée et migration des écosystèmes vers l'intérieur des terres et à de plus hautes latitudes
Faible participation et implication de la communauté dans la gestion des ressources	Manque de soutien aux efforts de conservation, impacts négatifs sur les moyens mis à disposition
Manque d'utilisation des données scientifiques disponibles dans les efforts de réhabilitation des mangroves	Échec des opérations de réhabilitation, utilisation des mangroves non durable
Surexploitation des ressources de la mangrove (bois, poissons, crustacés...)	Diminution/ dégradation de la ressource
Difficulté à quantifier les services écosystémiques fournis	Dévaluation des écosystèmes de mangrove par les décideurs
Manque d'appréciation des valeurs des mangroves	Absence de cadrage pour la conservation et la gestion durable
Difficulté à quantifier la valeur des usages directs et indirectes des mangroves	Absence de mesures incitatives pour protéger et gérer durablement les écosystèmes de mangroves
Chevauchements institutionnels et conflits	Duplication des efforts, gaspillage de ressources ; efforts de conservation de la mangrove qui sont amoindris
Manque d'application de la législation existante	Perte d'habitats de mangroves
Mauvais cadre juridique	Ressources non protégées ; chevauchements et contradictions institutionnels ; exploitation des ressources non contrôlée
Manque de financement durable pour les efforts de gestion	Activités de conservation ou de réhabilitation de la qui ne peuvent pas être maintenues

Au cours de ces 25 dernières années, 25% des mangroves caribéennes ont été détruites (Polidoro *et al.* 2010). Trois catégories de perturbations anthropogéniques ont été identifiées pour les mangroves de cette zone :

- Les perturbations résultant des utilisations extractives des mangroves et de la faune des mangroves,
- Les perturbations résultant des changements dans l'hydrologie des hautes terres dus à la construction et/ou à des pollutions diverses,
- Les destructions associées à l'urbanisation et les impacts du changement climatique résultant des augmentations de CO₂ et de l'élévation du niveau de la mer.

En plus de la montée du niveau de la mer, les modèles climatiques prédisent au cours des prochains siècles pour l'espace caribéen d'autres impacts du changement climatique sur les mangroves. L'élévation de la température de la surface de la mer, la diminution des précipitations et l'augmentation des phénomènes météorologiques extrêmes tels que les ouragans sont à prévoir provoquant des intrusions salines, l'érosion côtière et la destruction de l'habitat (Wilson 2017).

1.1.2 Les cycles biogéochimiques

Les impacts anthropiques entraînent des modifications sur le fonctionnement des écosystèmes en dérégulant les cycles biogéochimiques des éléments majeurs. En effet, le fonctionnement des écosystèmes est garanti par un ensemble de processus de transports et de transformations d'éléments chimiques, avec en permanence des échanges entre l'hydrosphère, l'atmosphère et la lithosphère. L'intersection entre les parties superficielles de ces trois réservoirs forme la biosphère. La biogéochimie est la discipline scientifique à l'interface entre les géosciences, la biologie et la chimie (Pédro 2007) qui va étudier les processus qui se déroulent au sein de ce compartiment (Figure 3).

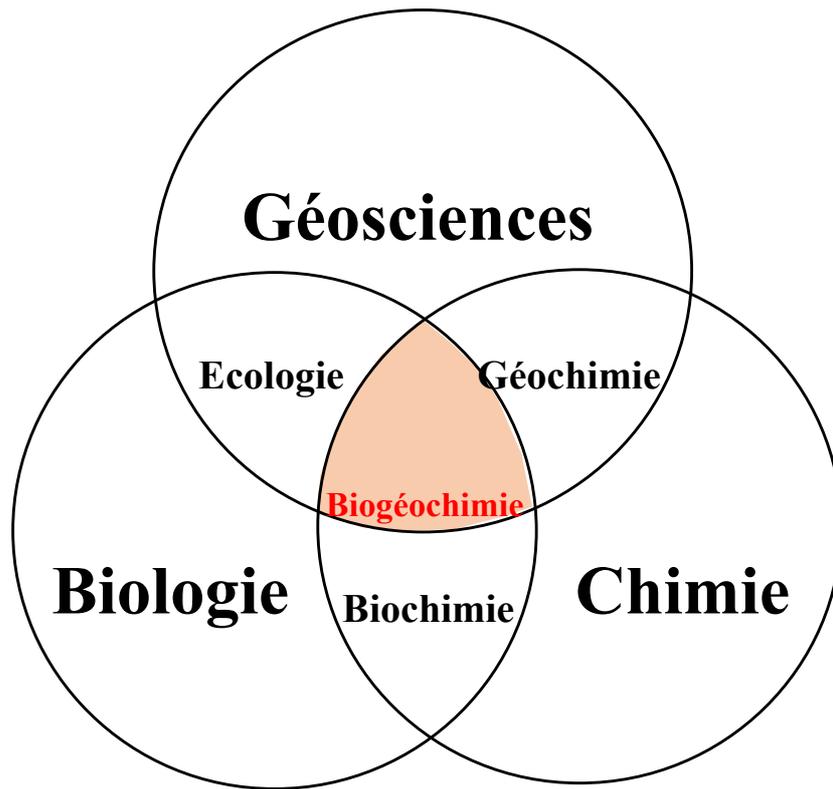


Figure 3: Disciplines impliquées dans la biogéochimie (Pédro 2007)

La biogéochimie est la discipline qui cherche à comprendre les processus complexes qui transforment et recyclent les substances chimiques organiques et inorganiques au sein des compartiments biotique (biosphère) et abiotique (lithosphère, atmosphère et hydrosphère) de la Terre (Madsen 2011). Pour un élément chimique donné, l'ensemble des processus de transport et de transformation au sein des différents réservoirs forment son cycle biogéochimique. Ces processus peuvent être purement chimiques (voie abiotique) ou être biologiquement médiés (voie biotique) (Pédro 2007).

1.1.2.1 Recyclage des nutriments

Le recyclage et la conservation des nutriments dans les écosystèmes de mangroves est dû aux relations étroites entre les micro-organismes présents dans les sédiments, la disponibilité des nutriments et la végétation. La Figure 4 présente les interactions entre les micro-organismes et les différents compartiments de la mangrove (Holguin *et al.* 2001). Les micro-organismes dépendent des communautés végétales qui les soutiennent. Ils transforment les éléments nutritifs contenus dans la végétation morte en éléments nutritifs pouvant être utilisés par les plantes vivantes (Holguin *et al.* 2001; Chen *et al.* 2016). Les exsudats racinaires induisent des

modifications dans la chimie du sédiment et constituent eux aussi une ressource alimentaire pour les micro-organismes (Castro *et al.* 2018).

Il existe peu de données de preuves directes sur la nature des relations entre ces divers compartiments. En effet, les preuves directes étant influencées par de nombreux facteurs tels que l'âge et le type de forêt, la taille des particules de sédiment, la fréquence d'inondation, la teneur en matières organiques et l'activité de la bioturbation il est ainsi difficile d'isoler les différents types d'échanges(Alongi 2005).

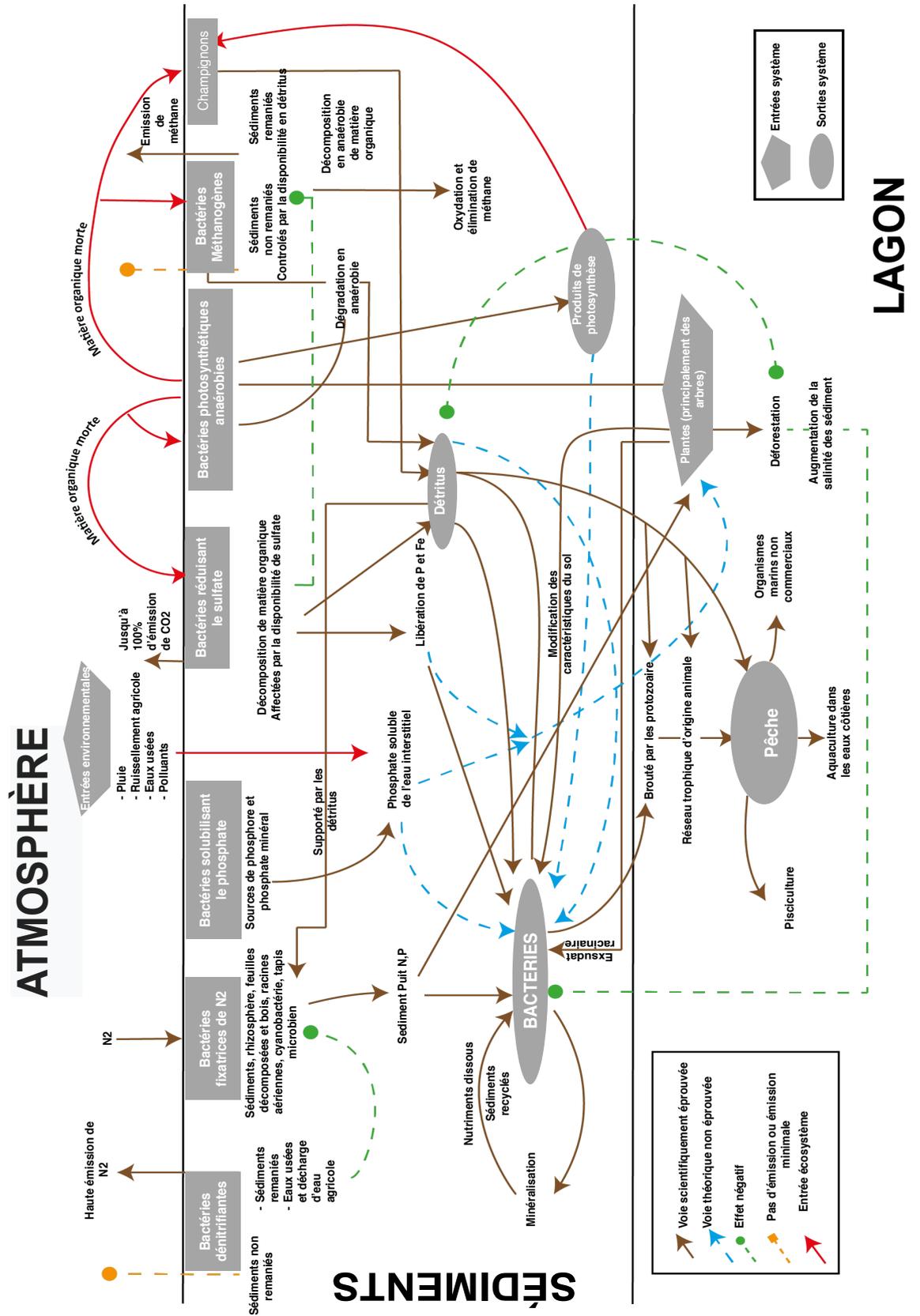


Figure 4 : Schéma des interactions des micro-organismes de mangrove avec les différents compartiments (Holguin *et al.* 2001)

Cependant, même s'il est difficile d'isoler les processus microbiens des processus liés à la végétation, ces interactions complexes sont le moteur de la productivité des mangroves et de leur capacité à bio-épurer certains types de contaminants. L'abondance et la diversité des micro-organismes présents dans les sédiments de mangrove garantissent le maintien, la productivité et la performance des processus écologiques qui s'y déroulent. En effet, en transformant et en modifiant la chimie du sédiment par leur activité métabolique, les micro-organismes régissent le cycle des nutriments ainsi que les cycles biogéochimiques au sein des mangroves (Lin *et al.* 2019). Les micro-organismes contribuent à la productivité des écosystèmes en consommant, produisant et décomposant en permanence la matière organique en source de nutriment (Holguin *et al.* 2001).

Comme pour certains processus abiotiques, les organismes vivants créent les conditions d'oxydo-réduction qui déterminent la chimie de la plupart des systèmes environnementaux aquatiques (Tratnyek et Macalady 2000). Les réactions d'oxydo-réduction interviennent dans la respiration cellulaire. Au cours de ces réactions il y a un transfert d'électron(s) entre un oxydant (accepteur d'électron(s)) et un réducteur (donneur d'électron(s)). Lors des réactions d'oxydoréduction le mouvement d'électron(s) au sein de la cellule permet le stockage d'énergie (Burgin et Hamilton 2007; Byung Hong et Gadd 2008). L'énergie est procurée à partir de différentes sources (énergie solaire : phototrophe/ énergies chimique : chimiotrophes) ; différents donneurs d'électrons (minéral ou organique) et différentes sources de carbone. Les organismes autotrophes pour le carbone sont capables de produire leur propre matière organique à partir de substrats minéraux. Par opposition, les organismes hétérotrophes sont incapables de synthétiser leur propre matière organique et utilisent la matière organique présente dans le milieu pour en tirer leurs sources d'énergie.

La dégradation de la matière organique peut être faite en aérobie par consommation d'oxygène moléculaire ou en anaérobie avec un composé inorganique comme accepteur final d'électron. Ces deux formes de respiration sont des réactions d'oxydoréduction dans lesquelles le carbone organique associé à des accepteurs d'électrons produit du CO₂, des produits réduits ou de l'eau dans le cas de la respiration aérobie et de l'énergie (Figure 5). Dans les cycles biogéochimiques, lorsque les éléments sont incorporés à la biomasse ou libérés à travers la décomposition, on parle d'assimilation microbienne. Par opposition, la voie dissimilative répond à une fonction énergétique en liant catalyse énergétique et transformation d'oxydoréduction des éléments permettant ainsi la libération dans l'environnement des éléments transformés (Burgin *et al.* 2011).

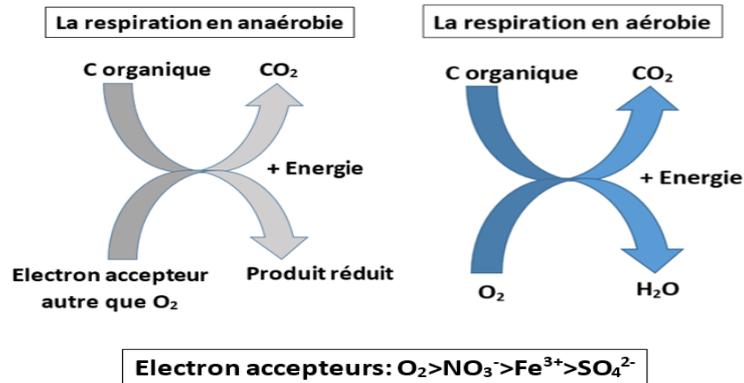
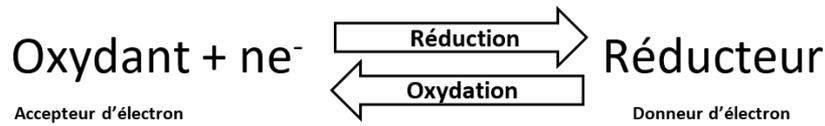


Figure 5 : Les réactions d'oxydoréduction. Schéma de la respiration hétérotrophe. Basée sur Burgin et Hamilton 2007.

Les oxydants sont limitants dans les sédiments et se succèdent de l'interface eau/sédiment vers la profondeur. En présence de plusieurs accepteurs d'électrons, les populations microbiennes vont utiliser celui qui est le plus énergétiquement favorable et s'organiser en strates selon le gradient d'oxygène comme présenté dans la Figure 6.

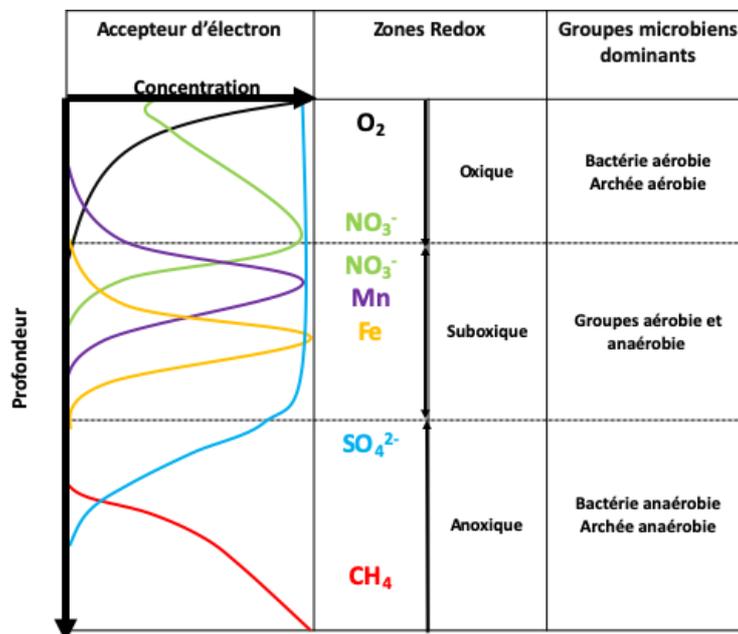


Figure 6 : Schéma de distribution des accepteurs d'électrons le long d'un profil de sédiment. Modifié de (Moreno 2015)

Dans les sédiments de mangroves, les populations bactériennes et les processus qui leurs sont associés sont répartis selon 4 zones d'oxydo-réduction (Clark *et al.* 1998). La zone supérieure dans laquelle l'apport en oxygène est suffisant pour permettre la respiration aérobie (quelques millimètres). La zone sous-jacente encore appelée zone de réduction est principalement régie par la minéralisation de la matière organique à partir des accepteurs d'électrons alternatifs et dominée par les bactéries sulfato-réductrices. La libération d'oxygène sous l'action mécanique des organismes fouisseurs et/ou du système racinaire des palétuviers peut être à l'origine du développement d'une zone inférieure d'oxydation (non représentée dans la Figure 6). Après cette zone suboxique, les conditions deviennent rapidement anoxiques définissant une zone dépourvue d'oxygène encore appelée zone de réduction inférieure.

Dans les sédiments, d'autres paramètres physico-chimiques tels que la nature du sédiment, la quantité de carbone organique, le pH, la température, la salinité et le type de végétation régulent la croissance des micro-organismes (Alongi 1988; Sahoo et Dhal 2009; Burgin *et al.* 2011; Chen *et al.* 2016). Parmi ces paramètres les plus impactants pour les communautés bactériennes sont la salinité, le contenu et la qualité du carbone organique disponible au sein des sédiments (Behera *et al.* 2019). Les communautés bactériennes vont donc varier tant spatialement que dans le temps en fonction des saisons et des types de mangroves. Les micro-organismes en constituant une source d'alimentation essentielle pour les invertébrés et les protistes forment la base des réseaux trophiques benthiques et peuvent éventuellement servir de puits au carbone (Chen *et al.* 2016). En mangrove, dans les sédiments de surface (0-2cm), les bactéries sont deux fois plus abondantes que dans les autres environnements benthiques et ce sont les procaryotes hétérotrophes qui dominent numériquement et énergétiquement (Alongi 1988; Alongi 2005; Fernandes *et al.* 2014). Dans les mangroves, les bactéries et les champignons constituent 91% de la masse microbienne totale contre 7% pour les algues et 2% les protozoaires (Alongi 1988; Holguin *et al.* 2001; Friesen *et al.* 2018). Le nombre de bactéries varie entre 10^9 et 10^{11} cellules par gramme de sédiment sec et la distribution verticale des bactéries dans les sols de mangroves est très irrégulière et ne présente généralement pas de tendance avec la profondeur (Alongi 2005).

Les communautés bactériennes des sédiments de mangrove sont très diversifiées, on y retrouve ainsi des bactéries fixatrices d'azote, des bactéries sulfatoréductrices, des bactéries méthanogènes, des bactéries photosynthétiques en anaérobiose, des bactéries dénitrifiantes... (Holguin *et al.* 2001; Sahoo et Dhal 2009). Pour déterminer la composition de la communauté bactérienne, Béhéra et ses associés (2018) ont prélevé 90 échantillons de sédiments au niveau

de la mangrove de Bhitarkanika en Inde. Vingt-huit phyla ont été identifiés et les plus abondants (> 1%) ont été les *Proteobacteria* (47,0%), les *Actinobacteria* (9,8%), les *Bacteroidetes* (7,6%), les *Acidobacteria* (4,7%), les *Firmicutes* (2,9%), les *Ignavibacteria* (1,5%), et les *Verrucomicrobia* (1,4%). La diversité microbienne diminue avec la profondeur (Pramanik *et al.* 2018).

1.1.2.2 Dégradation de la matière organique dans les sédiments de mangrove : le cycle du carbone

Le carbone naturel (symbole C, numéro atomique 6, de masse atomique 12,011) est un mélange de trois isotopes deux stables ^{12}C (98,93%) et ^{13}C (1,07%) et un radiogénique ^{14}C (traces). Le carbone se trouve principalement sous deux formes : le carbone inorganique (C_{inorg}) et le carbone organique (C_{org}).

L'extrême hétérogénéité des mangroves rend la compréhension des dynamiques biogéochimiques du carbone complexe. En effet, de par leur capacité à assimiler le CO_2 atmosphérique via la photosynthèse et la chimiosynthèse, mais aussi grâce à leur efficacité pour l'accumulation/stockage/production de matière organique dans les sédiments, les mangroves sont un puit pour le CO_2 . Mais les mangroves jouent aussi le rôle de source de carbone organique dissous et particulaire pour les eaux côtières adjacentes.

La production primaire nette (NPP) de surface des mangroves à savoir la production nette de carbone organique produite par la biomasse est estimée à $\sim 218 \pm 72$ Tg C par an par (Bouillon *et al.* 2008a) alors qu'Alongi (2009) fait une estimation du taux de production primaire à 11.1 Mg C ha^{-1} par an. Les mangroves sont très productives et la NPP des mangroves est supérieure à celle des marais salant (8.34 Mg C $\text{ha}^{-1}\text{an}^{-1}$), des herbiers marins (1.04 Mg C $\text{ha}^{-1}\text{an}^{-1}$), des macro algues (3.8 Mg C $\text{ha}^{-1}\text{an}^{-1}$) et du phytoplancton côtier (1.7 Mg C $\text{ha}^{-1}\text{an}^{-1}$) mais est à peu près équivalente à celle des récifs coralliens (10 Mg C $\text{ha}^{-1}\text{an}^{-1}$)(Alongi 2014).

1.1.2.2.1 Origine et composition de la matière organique

Les études des isotopes stables du carbone et des rapports carbone/azote (C/N) des sédiments de mangrove constituent des outils efficaces pour le traçage de la matière organique dérivée des mangroves. Même si la mangrove est un milieu dynamique au sein duquel les sédiments, l'eau de mer et l'eau douce se mélangent, une compilation de données visant à déterminer l'origine de la matière organique des sédiments de mangrove montre que la matière organique

des mangroves est principalement autochtone. En effet, la matière organique est localement alimentée par la décomposition de la litière, la production du système racinaire et les micro algues benthiques dont les proportions varient en fonction des conditions hydrodynamiques et géomorphologiques locales (Bouillon *et al.* 2007; Kristensen *et al.* 2008; Alongi 2009). De par leur statut d'interface, la matière organique des mangroves trouve aussi ses origines dans des sources allochtones car elles sont soumises par le biais des marées aux apports marins des écosystèmes côtiers océaniques (phytoplancton et détritus des herbiers) mais sont aussi sujettes à l'arrivée de matière terrigène des écosystèmes terrestres adjacents (Holmer *et al.* 2001a; Kristensen *et al.* 2008; Alongi 2014; Alongi et Mukhopadhyay 2015).

Les écosystèmes de types mangrove produisent une grande quantité de litière contribuant ainsi à la production de matière organique dissoute et au recyclage des nutriments (Kristensen *et al.* 2008). En moyenne la chute globale de la litière de mangrove varie entre 48 et 924 g C m⁻² par an (Twilley *et al.* 1992) et diffère en fonction du type de palétuvier (Alongi *et al.* 1998). Cette litière est principalement constituée de composants lignocellulosiques dégradables par les micro-organismes provenant des palétuviers (feuilles, propagules, bois) (Alongi 1988; Alongi *et al.* 2005). Comme présenté dans la Figure 7, la première source de production des mangroves est attribuée au système racinaire (~82 ± 57 Tg C par an), suivi par la litière (feuilles, propagules et racines aériennes, ~68 ± 20 Tg C par an) qui est équivalente à la production de bois (~67 ± 40 Tg C par an) (Bouillon *et al.* 2008a).

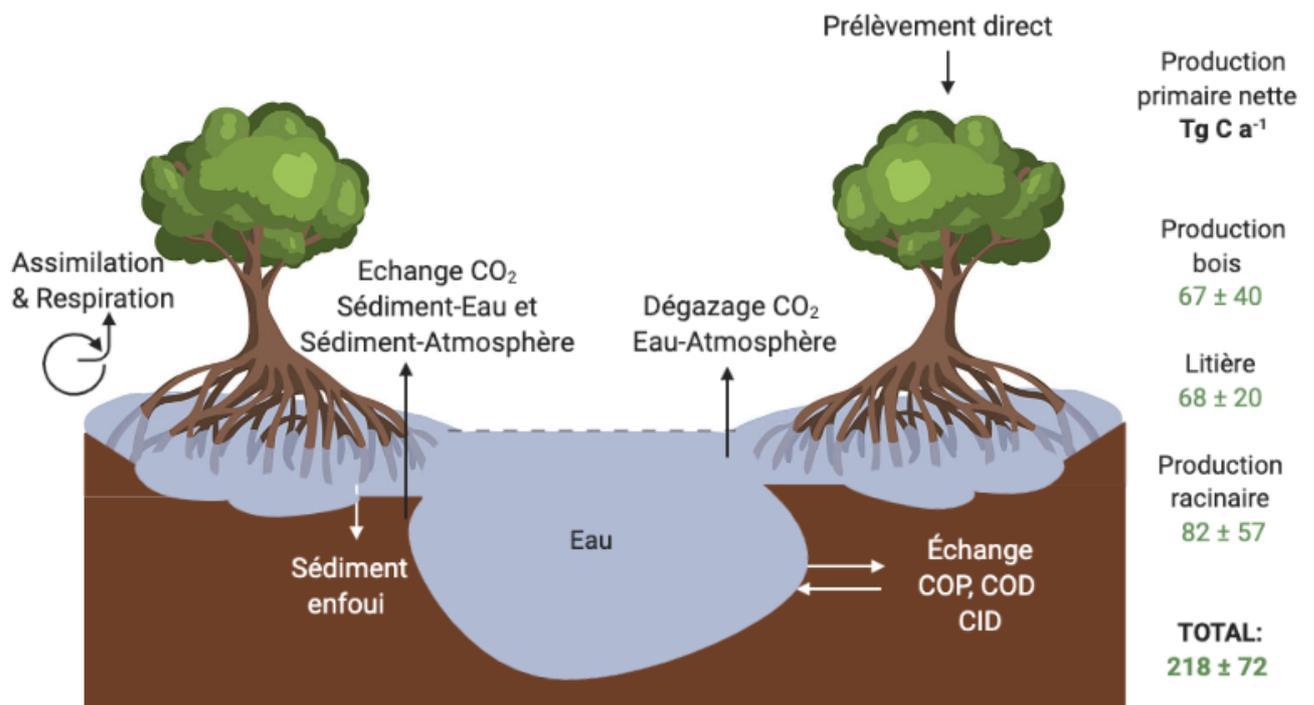


Figure 7 : Schéma résumant les principaux composants impliqués dans la production primaire des mangroves et estimation de la production primaire nette des palétuviers. Modifié de (Bouillon *et al.* 2008a)

1.1.2.2.2 Devenir de la matière organique

La matière organique subit divers processus de décomposition : la fragmentation, le lessivage et la dégradation microbienne. Dans un premier temps la macrofaune décompose et enterre la litière. Cette fragmentation aboutit à l'augmentation des surfaces disponibles pour les micro-organismes. Cette première action de la macrofaune permet d'améliorer la qualité de la litière, qui à son tour permettra l'augmentation des taux de décomposition via le lessivage et l'activité microbienne (Friesen *et al.* 2018). Une partie de la décomposition de la litière commence par le lessivage des substances organiques solubles avec la libération de matière organique dissoute notamment le carbone organique (Benner *et al.* 1990; Kristensen *et al.* 2008). Ainsi les feuilles de palétuviers fraîches peuvent perdre entre 30 à 50% de leur poids sec à cause de la lixiviation des composants hydrosolubles (Benner et Hodson 1985) et les matières dissoutes relativement labiles peuvent être facilement recyclées (Kristensen *et al.* 2008). La dégradation microbienne de la végétation quant à elle commence immédiatement après la colonisation par les champignons et les bactéries résidant dans les sédiments, et peut durer plus de deux ans (Newell *et al.* 1984).

La matière organique s'accumule fortement dans les mangroves créant des pools de carbone. En effet, les sédiments de mangrove représentent un grand stock de carbone et sont parmi les forêts les plus riches en carbone en zones tropicales en contenant en moyenne $1,023 \text{ Mg C ha}^{-1}$ (Donato *et al.* 2011), soit des taux moyens d'enfouissement de carbone évalués entre 24 Tg C par an (Alongi 2014) et 18.4 Tg C par an (Bouillon *et al.* 2008b) soit 18.4% de la productivité primaire nette. Ces stocks élevés de carbone sont dus à l'importante accumulation de matière organique dans le substrat via la litière, le piégeage par les racines, les dépôts allochtones de sédiments organiques et inorganiques (Gontharet *et al.* 2017; Taillardat 2018), les conditions suboxiques à anoxiques des sédiments qui empêchent la décomposition de la matière organique et la faible qualité nutritionnelle de la litière de mangrove (Marchand *et al.* 2003).

Alors que certaines mangroves conservent leurs détritiques dans leurs sédiments, d'autres perdent une fraction importante de leur production primaire nette dans les écosystèmes adjacents principalement sous l'influence de la marée. Selon l'estimation faite par (Bouillon *et al.* 2008a) l'export de carbone organique total vers les écosystèmes voisins serait compris entre $44.6 \pm 30.5 \text{ Tg C.an}^{-1}$ à $40.3 \pm 44.3 \text{ Tg C.an}^{-1}$ et concernerait aussi bien les formes de carbone dissoutes que particulaires. Bien qu'elles soient probablement faibles comparées aux pertes dues aux marées, à la photosynthèse, à la chimiosynthèse et à la reminéralisation, il existe aussi d'autres pertes qui sont omises dans le bilan des exports, telles l'extraction de bois (fins humaines ou encore la coupe à blanc) ou encore l'extraction de la faune au profit d'autres consommateurs y compris l'homme (Alongi 2014). La Figure 7 schématise le devenir de la matière organique carbonée au sein des mangroves. L'export de la production autochtone, l'arrivée de matériaux allochtones, l'accumulation et le temps de résidence des stocks de carbone au niveau des mangroves dépendent de nombreux paramètres environnementaux régulés par des processus physiques et géomorphologiques. (Alongi *et al.* 1998; Alongi *et al.* 2000; Holguin *et al.* 2001; Kristensen *et al.* 2008; Bouillon *et al.* 2008b; Sanders *et al.* 2016; Kristensen *et al.* 2017; Friesen *et al.* 2018; Xiong *et al.* 2018). L'écosystème de mangrove fournit d'immenses avantages aux systèmes voisins en servant à la fois de puit et de source de nutriments et de sédiments pour les autres habitats côtiers comme les herbiers et les récifs coralliens (Lin et Dushoff 2004; Polidoro *et al.* 2010; Sandilyan et Kathiresan 2012; Wang *et al.* 2020).

La séquestration du carbone, des nutriments et la productivité des mangroves dépendent principalement du renouvellement de la matière organique et de minéralisation de cette dernière (Contreras *et al.* 2017). Bien qu'elles soient riches en matière organique de par leur efficacité pour la séquestration du carbone (Bouillon *et al.* 2008a; Kristensen *et al.* 2008), les

mangroves sont généralement pauvres en éléments nutritifs (Alongi 1996; Feller *et al.* 2003a; Lee *et al.* 2008). Le recyclage des éléments nutritifs repose principalement sur la minéralisation de la matière organique. Ce processus fondamental va permettre la production de nutriments assimilables par les organismes. La respiration aérobie et la réduction des sulfates en anaérobie sont considérées comme les principales voies d'oxydation du carbone dans les sédiments de mangrove (Kristensen *et al.* 1995; Rivera-Monroy et Twilley 1996; Kristensen *et al.* 2008). Dans les sédiments côtiers riches en matière organique, la respiration aérobie qui a lieu dans les couches sédimentaires superficielles (profondeurs comprises entre 0 à 5 mm) entraîne une diminution rapide de l'oxygène laissant rapidement place aux processus de minéralisation en anaérobie (Jørgensen 1983; Kristensen *et al.* 1992; Herbert 1999; Burgos *et al.* 2018). La décomposition de la matière en anaérobie est réalisée par une grande variété de bactéries qui utilisent différents accepteurs d'électrons pour oxyder le carbone (Froelich *et al.* 1979; Burgin et Hamilton 2007; Gu *et al.* 2012; Vincent *et al.* 2017). Les différentes cinétiques et différentes voies de biodégradation et biotransformation de la matière organiques dépendent de paramètres comme les conditions climatiques (pluviométrie, température), la nature et la gestion des sols, la nature et la disponibilité des produits organiques et l'activité des micro-organismes (Pédro 2007; Kristensen *et al.* 2008).

La disponibilité de l'azote et du soufre ainsi que leurs concentrations sont étroitement liées à la productivité dans les mangroves et par conséquent au cycle du carbone. L'objet des prochains sous-chapitres est l'étude de la réactivité de la matière organique en conditions anoxiques via l'étude des interactions entre les cycles biogéochimiques du carbone, du soufre et de l'azote.

1.1.2.3 Cycle du soufre

1.1.2.3.1 Généralités

Le soufre (symbole S, numéro atomique 16) a une masse atomique de 32,065. Le soufre naturel est un mélange de 4 isotopes stables : ^{32}S (95,02 %), ^{33}S (0,75 %), ^{34}S (4,21 %) et ^{36}S (0,02 %). Le soufre est un élément essentiel pour tous les organismes. Il se retrouve dans les protéines car il rentre dans la composition de deux acides aminés naturels : la cystéine et la méthionine. Les sources principales de soufre se retrouvent dans la croûte terrestre (gypse CaSO_4 et la pyrite FeS_2) et les océans (sulfate SO_4^{2-}). Alors que le soufre élémentaire (cristaux de couleur jaune ou blanche) est le quatorzième élément le plus abondant sur Terre, le sulfate est le troisième ion le plus abondant après le chlorure et le sodium dans l'eau de mer (Behera *et al.* 2014). Le

soufre, possède plusieurs états d'oxydation (Tableau 3). En raison de cette variété d'états d'oxydation, les composés soufrés vont être impliqués dans les processus assimilatifs et dissimilatifs aussi bien en tant que donneur ou qu'accepteur d'électrons ce qui rend son cycle biogéochimique complexe (Kumar *et al.* 2018).

Tableau 3 : Degrés d'oxydation du soufre dans les composés soufrés

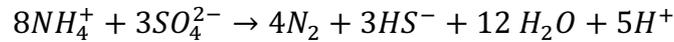
Composés	Formule	Etat d'oxydation
Sulfate	SO ₄ ²⁻	+6
Sulfite	SO ₃ ²⁻	+4
Dioxyde de soufre	SO ₂	+4
Tétrathionate	S ₄ O ₆ ²⁻	0 ou +5
Thiosulfate	S ₂ O ₃ ²⁻	+2
Soufre élémentaire	S ⁰ , S ₈	0
Pyrite	FeS ₂	-1
Monosulfure de fer	FeS	-2
Sulfure d'hydrogène	H ₂ S	-2

Les sédiments de mangrove sont rapidement anoxiques et riches en soufre (Holmer *et al.* 1994; Behera *et al.* 2014). Dans ces sédiments, les principales voies du cycle biogéochimique du soufre impliquent des interactions complexes entre les métabolismes microbiens et les réactions chimiques (Figure 8).

1.1.2.3.2 La réduction du sulfate en sulfure

La réduction microbienne dissimilatrice du sulfate en sulfures est la voie prédominante de la minéralisation de la matière organique dans les sédiments marins anoxiques (Jørgensen *et al.* 2019). Les taux de réduction du sulfate pourraient supporter jusqu'à 100% du flux de CO₂ mesuré à l'interface eau/sédiment des mangroves (Kristensen *et al.* 1991). Dans les sédiments les taux de sulfato-réduction dépendent de la disponibilité du SO₄²⁻, de la température, du pH, de la qualité et de la quantité de la matière organique, de la salinité (McKee *et al.* 1988; Kristensen *et al.* 1991; Holmer *et al.* 1994; Sherman *et al.* 1998; Gu *et al.* 2012). D'autres processus de réduction sont avérés ou envisageables dans les sédiments de mangrove. En effet, le sulfate est l'accepteur d'électrons le plus abondant dans les océans et peut thermodynamiquement supporter l'oxydation anaérobie de l'ammonium dans les sédiments marins en l'absence de nitrite. Ce processus de réduction du sulfate associé à l'oxydation de l'ammonium a été identifié par Schrum *et al.* en 2009 dans des sédiments marins dont les eaux interstitielles présentaient une perte d'ammonium (Equation 1). Ce processus encore appelé

sulfammox en plus de la production du sulfure libre comme indiqué dans peut produire du soufre élémentaire et de la sphalérite (ZnFeS) (Rios-Del Toro *et al.* 2018; Rios-Del Toro et Cervantes 2019).



Equation 1 : Réaction de sulfammox

Lorsque le sulfate est épuisé en profondeur, la méthanogénèse devient le processus préférentiel de la minéralisation de la matière organique (Howarth et Giblin 1983), le sulfate sert alors d'accepteur d'électrons. La réduction du sulfate est alors associée à l'oxydation du méthane en anaérobie (Boetius *et al.* 2000).

1.1.2.3.3 L'oxydation des sulfures

Les sulfures formés suite à la réduction du sulfate sont réoxydés par voie microbienne ou chimique via divers intermédiaires soufrés suivant des réactions qui impliquent par exemple l'oxygène, les nitrates, le manganèse ou le fer. L'ampleur de la réoxydation des sulfures dépend de la quantité et du type d'oxydant disponible mais aussi de l'activité des micro-organismes (Crémière *et al.* 2017; Jørgensen *et al.* 2019). La réoxydation des sulfures réduits est rapide dans les sédiments de mangrove et le stockage du soufre est mineur dans les couches supérieures des sédiments du fait de facteurs tels que la bioturbation, la présence de racines ou le mélange des marées qui améliorent les processus d'oxydation (Crémière *et al.* 2017).

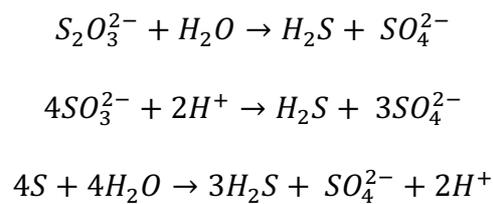
Les bactéries sulfoxydantes, les photoautotrophes, les chimiolithotrophes et les hétérotrophes jouent un rôle déterminant dans les mangroves en maintenant le cycle du soufre ainsi que la santé écologique de l'écosystème grâce à leur activité détoxifiante au niveau de l'élimination des sulfures. Les photoautotrophes utilisent le CO₂ comme accepteur d'électrons terminal, tandis que les chimiolithotrophes peuvent utiliser l'oxygène (espèces aérobies) ou les nitrates et les nitrites (espèces anaérobies) comme accepteurs d'électrons terminaux (Behera *et al.* 2014; Kamaleson et Gonsalves 2019) : on parle alors de dénitrification sulfureuse.

Le cycle du soufre dans les sédiments de mangrove est également étroitement lié au cycle biogéochimique du fer. Les oxydes de fer réactifs présents dans les sédiments peuvent efficacement oxyder les sulfures réduits. Dans les couches de sédiments profondes et réduites, la précipitation de sulfures de fer sous diverses formes est un processus important en terme d'enfouissement /immobilisation du soufre. La pyrite est le produit final de la formation des minéraux sulfurés et constitue un puit sédimentaire pour le soufre (Jørgensen et Nelson 2004).

Dans les sédiments de mangrove 41 à 91% des sulfures réduits se retrouvent sous forme de FeS_2 et en S^0 (Holmer *et al.* 1994). Les sulfures formés lors des réactions de réduction peuvent aussi être oxydés en soufre élémentaire par les oxydes de manganèse.

1.1.2.3.4 La disproportionation ou dismutation

Dans ce processus les espèces soufrées sont simultanément oxydées en sulfate et réduites en sulfures indépendamment des réducteurs ou des oxydants externes comme présenté dans les équations suivantes (Jørgensen et Nelson 2004).



Equation 2 : Réaction de dismutation du soufre

Dans le cadre des expérimentations réalisées dans cette thèse, le processus de dismutation ne sera pas étudié.

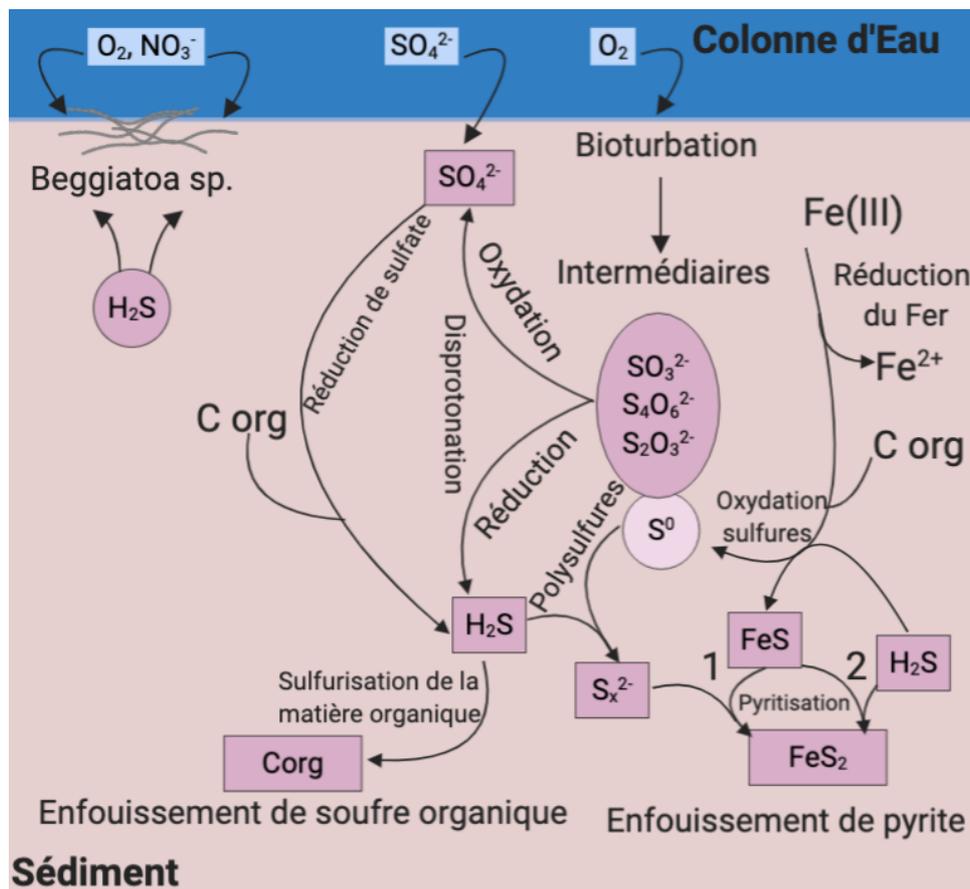


Figure 8 : Cycle global du soufre dans les sédiments marins (Jørgensen *et al.* 2019)

1.1.2.4 Cycle de l'azote

1.1.2.4.1 Généralités

L'azote (symbole N, numéro atomique 7) a été découvert au 18^{ème} siècle par Rutherford (Weeks 1934). De masse atomique 14,007, l'azote naturel est un mélange de deux isotopes stables : ¹⁴N (99,63 %) et ¹⁵N (0,37 %). L'azote est un élément majeur dans tous les organismes. On le retrouve dans les protéines, les tissus structuraux, les enzymes, les acides nucléiques, la paroi cellulaire. La forme d'azote la plus abondante sur terre est l'azote sous forme moléculaire (N₂), ce diazote représente 78% de la composition de l'atmosphère.

En milieu naturel, l'azote est disponible sous plusieurs formes chimiques à différents degrés d'oxydation (Tableau 4). On le retrouve sous forme dite non réactive comme le diazote et sous forme dite active biologiquement et chimiquement soit toutes les autres formes d'azote présentes au sein de l'atmosphère et de la biosphère. L'azote se trouve principalement sous deux formes : l'azote inorganique (N_{inorg}) et l'azote organique (N_{org}). Le (N_{inorg}) est inclus dans un nombre limité d'espèces chimiques (ammonium, nitrate, nitrite...) alors que le N_{org} est présent dans de nombreuses molécules organiques (nucléotides, urée, aminoacides...). Ainsi, l'azote se retrouve au cœur d'une multitude de réactions chimiques, générant la cascade de l'azote réactif. L'activité microbienne par le biais de la mise en place de divers processus métabolique va être le principal moteur du cycle de l'azote dans les mangroves. Le rôle joué par l'azote pour les organismes vivants est de deux catégories : l'assimilation qui est l'acquisition de matière pour l'incorporation dans la biomasse et la dissimilation qui désigne les procédés qui sont associés à une extraction d'énergie provenant de l'environnement (Thamdrup 2012).

Tableau 4 : Degrés d'oxydation des composés azotés

Composés	Formule	Etat d'oxydation
Nitrate	NO ₃ ⁻	+5
Nitrite	NO ₂ ⁻	+3
Oxyde nitrique	NO	+2
Oxyde nitreux	N ₂ O	+1
Diazote	N ₂	0
Hydroxylamine	NH ₂ OH	-1
Ammoniaque/ Ammonium	NH ₃ , NH ₄ ⁺	-3

Dans ces écosystèmes côtiers peu profonds, les sources principales d'azote sont celles des dépôts atmosphériques, des fertilisants, des eaux usées, des eaux provenant du ruissellement, mais aussi l'azote ayant une origine marine introduit par les mouvements de marées et l'azote provenant de la végétation, de la faune et des sédiments (Purvaja *et al.* 2008; Reis *et al.* 2017b). Dans les environnements marins, l'azote est disponible sous les formes suivantes : NO_3^- , N_2 , N_2O , NO_2^- , NH_4^+ et N_{org} . Dans les mangroves, l'azote sous forme organique est prédominant et les concentrations des formes inorganiques sont faibles en particulier pour le nitrate et le nitrite dont les concentrations sont faibles comparées à celles d'autres sédiments marins (Purvaja *et al.* 2008). L'ammonium est la source d'azote la plus abondante alors que le nitrate et le nitrite sont détectables à de faibles concentrations dans les sédiments de mangrove (Purvaja *et al.* 2008; Ray *et al.* 2014).

Du fait du petit volume de la colonne d'eau par rapport à la grande surface de sédiments, les échanges à travers l'interface sédiment-eau jouent un rôle clé dans le cycle des éléments nutritifs au sein des systèmes côtiers tels que les mangroves (Purvaja *et al.* 2008). L'hétérogénéité des habitats et la nature des sédiments vont influencer les processus biogéochimiques qui régissent la conversion de l'azote dans les sédiments de mangroves et son export vers les écosystèmes adjacents.

L'élimination du nitrate et la dégradation de la matière organique dans les sédiments de mangrove en anaérobie sont le cœur de cible de ce travail de thèse, de ce fait, seuls les processus d'élimination du nitrate se déroulant en anaérobie seront présentés dans la suite de cette section.

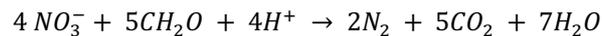
1.1.2.4.2 La minéralisation de la matière organique azoté

Lors de la minéralisation, les composés azotés organiques sont dégradés par voie biologique hétérotrophe par les micro-organismes en composés azotés simples principalement de nature minérale. Dans les sédiments marins, ce processus de dégradation de macromolécules azotées est complexe et mal compris (Herbert 1999).

1.1.2.4.2.1 Dénitrification

La dénitrification est le processus de réduction du nitrate en diazote couplée à l'oxydation de la matière organique qui est utilisée comme donneur d'électron(s), de l'hydrogène, du fer réduit et des sulfures (Knowles 1982; Tiedje 1988; Thamdrup 2012). La dénitrification est réalisée en anaérobie par des micro-organismes hétérotrophes et autotrophes. Les organismes dénitrifiants sont retrouvés parmi les bactéries et les archées mais le processus de dénitrification a été aussi observé chez les champignons et les foraminifères benthiques (Jetten

2008; Kraft *et al.* 2011; Thamdrup 2012). Ces derniers accumulent le nitrate dans des réserves intracellulaires qu'ils peuvent utiliser pour respirer. Pour les bactéries hétérotrophes, ce processus est utilisé comme une alternative à la respiration aérobie de l'oxygène. Le nitrate est alors utilisé comme accepteur terminal d'électron(s) ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$) et la réaction a lieu en quatre étapes : la réduction des NO_3^- en NO_2^- , la réduction des NO_2^- en oxyde nitrique (NO), la réduction du NO en oxyde nitreux (N_2O) et enfin la réduction du N_2O en N_2 (Equation 3). La réaction globale de la dénitrification est présentée en equation.



Equation 3 : Réaction de dénitrification hétérotrophe

Comme présenté dans la (Figure 9), chez les bactéries à Gram-négatif, l'enzyme nitrate réductase catalyse la réduction du nitrate en nitrite dans le cytoplasme (NarG). Les nitrites sont ensuite transportés dans le périplasma et une nitrite réductase périplasmique (Nir) catalyse la réduction des nitrites en oxyde nitrique. La réduction de l'oxyde nitrique en oxyde nitreux est ensuite catalysée par l'oxyde nitrique réductase (NOR). Pour finir la réduction de l'oxyde nitreux en diazote, est catalysée par l'enzyme périplasmique oxyde nitreux réductase (NOS). Dans les bactéries à Gram positif et dans les archées dépourvues d'espace périplasmique, les quatre enzymes sont liées à la membrane. Il est prouvé que chez les archées, la réduction des nitrates a lieu du côté extérieur de la membrane cytoplasmique (Jetten 2008; Kraft *et al.* 2011).

Dans les sédiments de mangrove, la dénitrification est fortement influencée par les quantités de nitrate, l'immobilisation de l'azote par la communauté bactérienne présente et la disponibilité en carbone organique (Reis *et al.* 2017b; Schutte *et al.* 2019). Les voies de contrôle du processus de dénitrification sont présentées dans la Figure 10. La dénitrification aboutit à une perte d'azote au sein du système. Les faibles concentrations en nitrate dans les sédiments de mangrove peuvent expliquer la faible part de la dénitrification au profit de processus de recyclage et de conservation de l'azote plus favorable au milieu telle que la DNRA (Fernandes *et al.* 2012a).

1.1.2.4.2.2 Réduction dissimilative du nitrate en ammonium ou DNRA

La DNRA est une autre voie réduction de nitrate couplée à l'oxydation de la matière organique qui permet la réduction dissimilative du nitrate en ammonium en condition anoxique. La DNRA permet la conservation de l'azote dans le milieu en minimisant la perte de nutriments qui se produirait autrement par dénitrification. En effet, la DNRA garantit la grande productivité du milieu en convertissant le nitrate en ammonium qui est biodisponible et donc

directement utilisable par les organismes (Fernandes *et al.* 2012a; Bernard *et al.* 2015; Cao *et al.* 2016).

La DNRA est réalisée à la fois par les organismes hétérotrophes, qui utilisent le carbone organique comme donneur d'électron(s) (DNRA fermentative) et par les organismes chimiolithoautotrophes qui utilisent le nitrate pour oxyder les sulfures ou d'autres substrats inorganiques réduits (Giblin *et al.* 2013). La DNRA fermentative est un processus qui se déroule en anoxie. Elle est favorisée dans les milieux réducteurs riches en carbone labile et ayant des quantités de nitrate limitées (Burgin et Hamilton 2007; Thamdrup 2012; Giblin *et al.* 2013; Pandey *et al.* 2020). La DNRA chimiolithoautotrophe couple la réduction du nitrate en ammonium avec l'oxydation des formes réduites du soufre (H_2S ; S^{2-} ; S^0). La concentration en sulfures libres influence le type de réduction de nitrate (Pandey *et al.* 2020). À des concentrations extrêmement faibles en sulfures libres, le nitrate est réduit par dénitrification alors qu'à des concentrations plus élevées la DNRA et la dénitrification incomplète prédominent (Brunet et Garcia-Gil 1996).

Le manque de données sur le métabolisme et la diversité des organismes qui réalisent la DNRA entravent la capacité à prédire l'influence des changements environnementaux sur le cycle de l'azote. Pour le moment peu d'études ont porté sur l'identification des enzymes impliquées dans la DNRA chimiolithoautotrophe (Giblin *et al.* 2013). La réduction initiale du nitrate en nitrite est catalysée par l'enzyme périplasmique nitrate réductase NapAB (Figure 9). Cependant, une nitrate réductase liée à la membrane, NarG, peut également être présente dans le même organisme (Jetten 2008; Kraft *et al.* 2011; Giblin *et al.* 2013; Pandey *et al.* 2020).

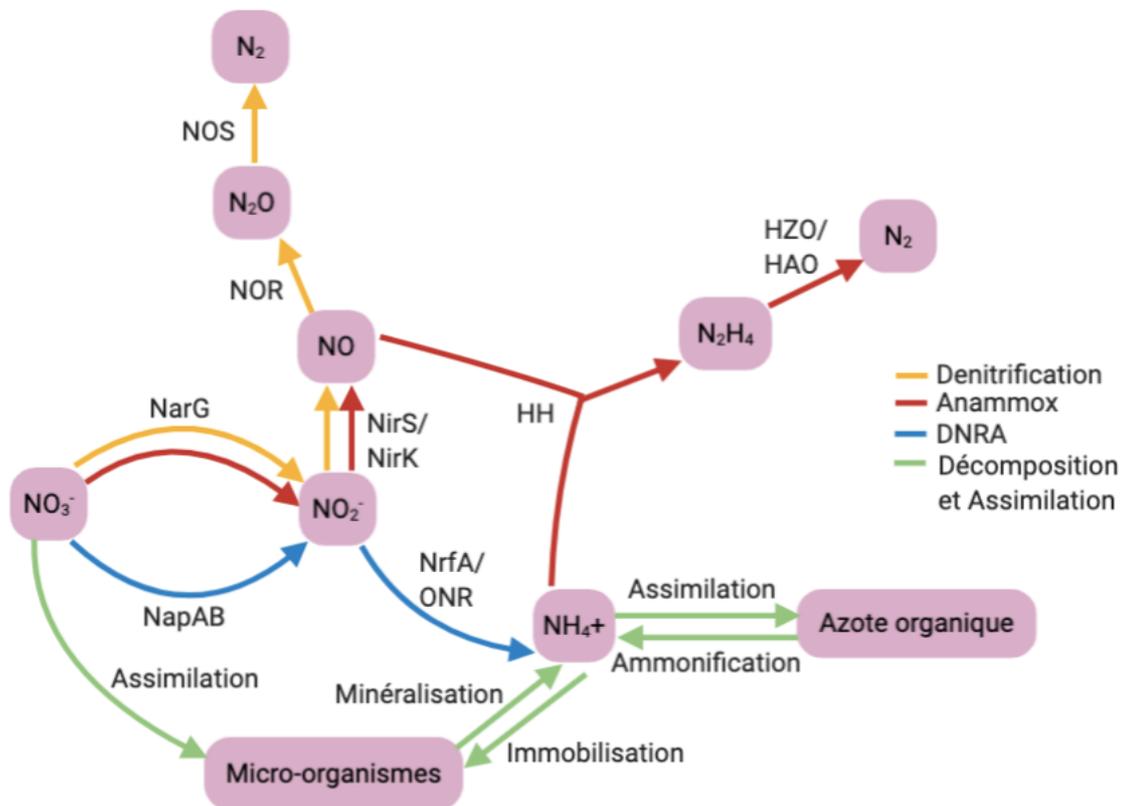
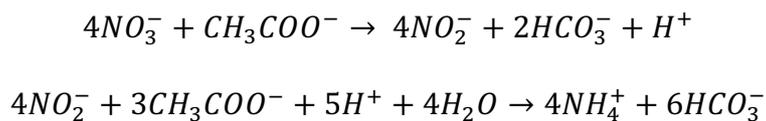


Figure 9 : Récapitulatif des principaux processus du cycle biogéochimique de l'azote dans les sédiments en anaérobie. Basé sur (Jetten 2008; Kraft *et al.* 2011; Giblin *et al.* 2013)

La réduction du nitrite en ammonium est quant à elle médiée par la cytochrome C nitrite réductase (Nrf) (Berks *et al.* 1995; Einsle *et al.* 1999) selon les réactions suivantes :



Equation 4 : Réaction de DNRA

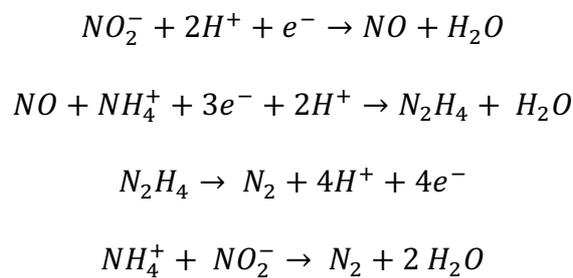
Dans les marais et les mangroves, les taux maximums de DNRA apparaissent dans les zones où la matière organique labile est riche. Dans certains sédiments de mangrove la réduction du nitrate se fait préférentiellement par le processus de DNRA au détriment des processus d'anammox et de dénitrification hétérotrophe (Burgin et Hamilton 2007; Giblin *et al.* 2013).

1.1.2.4.2.3 Anammox

L'ammonium peut être oxydé en N₂ en conditions d'anaérobie par des bactéries spécialisées, les bactéries anammox. Ces bactéries qui réalisent la réaction d'anammox sont chimio-autotrophes et utilisent l'ammonium comme source d'énergie et le nitrite comme accepteur d'électron terminal (Gruber 2008). Les bactéries Anammox sont rencontrées dans les

écosystèmes pauvres en oxygène ; leur diversité et leur abondance diffèrent en fonction des habitats (Strous *et al.* 1999; Li *et al.* 2018). Ces bactéries ont été trouvées dans divers environnements tels que les sols, les eaux souterraines, les stations d'épuration, les sédiments d'eau douce et marins, les lacs, les estuaires, les sources chaudes, les sources hydrothermales et l'hypersalines (Rios-Del Toro et Cervantes 2019). Les mangroves constituent une niche favorable pour les bactéries anammox ; l'activité de ces dernières est cependant faible et leur contribution dans la production de N₂ ne semble pas être majoritaire (Fernandes *et al.* 2012b).

Trois réactions ont été suggérées pour expliquer la stœchiométrie globale du processus (Rios-Del Toro et Cervantes 2019) :



Equation 5 : Réaction d'anammox

Outre les gènes qui codent pour les enzymes connues pour la réduction des nitrates (NarGH), la réduction des nitrites (NirS) et l'oxydation de l'hydrazine en diazote par une hydroxylamine oxydoréductase (HAO) spécifique à l'anammox (Figure 9), de nouvelles enzymes susceptibles d'intervenir dans le processus d'anammox ont été suggérées. L'hydrazine hydrolase (HH) produit de l'hydrazine à partir d'ammonium et d'oxyde nitrique. En plus de produire une grande quantité d'HAO, les bactéries anammox expriment également une enzyme appelée HZO qui oxyde l'hydrazine mais pas l'hydroxylamine (Jetten 2008; Kraft *et al.* 2011). La Figure 9 récapitule les processus du cycle de l'azote qui ont lieu en anaérobie ainsi que les enzymes qui leur sont associées.

Les variables telles que la disponibilité du nitrite et de l'ammonium, le contenu de matière organique, le pH, la salinité ou la présence de microphytobenthos seraient susceptibles de réguler le processus d'anammox (Purvaja *et al.* 2008; Li *et al.* 2018). Le processus d'anammox semble être stimulé dans les environnements pauvres en oxygène et limités en substrat organique et inhibé par les sulfures même à faibles concentrations (Kraft *et al.* 2011; Thamdrup 2012; Rios-Del Toro et Cervantes 2019).

Les micro-organismes étant le moteur des réactions du cycle biogéochimique de l'azote, les paramètres environnementaux qui affectent leur activité (température, salinité, disponibilité des nutriments, caractéristiques des sédiments, bioturbation, marées, présence de racines...) vont par conséquent conditionner les processus métaboliques en présence et leur taux de réaction. Cependant, ces facteurs environnementaux qui déterminent la balance entre la DNRA, la dénitrification et l'anammox dans les systèmes aquatiques ne sont pas complètement compris (Lee et Joye 2006; Giblin *et al.* 2013). La figure ci-dessous réalisée par Burgin et Hamilton 2007 présente les voies possibles d'élimination du nitrate et les conditions qui leur sont associées. La concentration en nitrates et les teneurs en carbone labile sont les principaux paramètres influençant la balance entre les divers processus d'élimination du nitrate (Burgin et Hamilton 2007; Kraft *et al.* 2011; Yang *et al.* 2012; Balk *et al.* 2015).

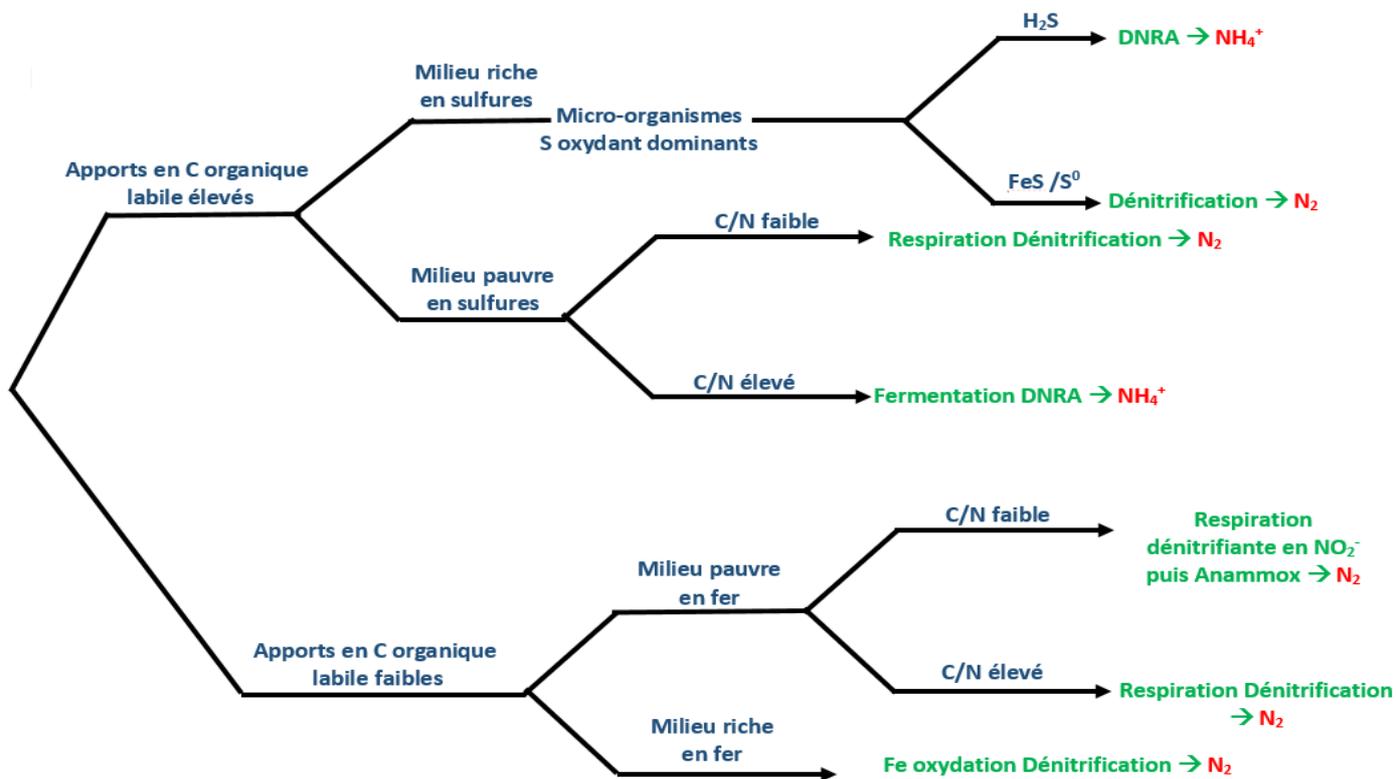


Figure 10 : Hypothétiques voies de contrôle des voies dissimilatives d'élimination du nitrate (Burgin et Hamilton 2007)

1.1.2.4.2.4 Le couplage entre les cycles

La complexité des processus biogéochimiques qui régissent le recyclage des nutriments rend d'autant plus compliquée la compréhension du fonctionnement global de l'écosystème. Comme présenté dans la Figure 11, les cycles N, S, C et Fe interagissent les uns avec les autres au travers des processus de dénitrification, de l'anammox, de la sulfammox, de la DNRA et de

la feammox (Rios-Del Toro et Cervantes 2019). De nombreuses bactéries peuvent utiliser les NO_3^- comme accepteurs d'électrons lors de l'oxydation des H_2S , telles que *Thiobacillus*, *Beggiatoa*, *Thioplaca*, *Desulfovibrio* (Greene *et al.* 2003; Jørgensen *et al.* 2019) selon la réaction suivante : $4\text{H}_2\text{S} + 4\text{NO}_3^- + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow 4\text{NH}_4^+ + 4\text{SO}_4^{2-}$. Les cycles sont aussi en compétition, comme pour les formes labiles du carbone organique [bactéries nitrato-réductrices versus les bactéries sulfato-réductrices] (Gu *et al.* 2012), les quantités de substrats comme le nitrate (Figure 12) ou encore à travers l'inhibition des bactéries réduisant le sulfate par des bactéries qui réduisent le nitrate et oxydent les sulfures (Greene *et al.* 2003).

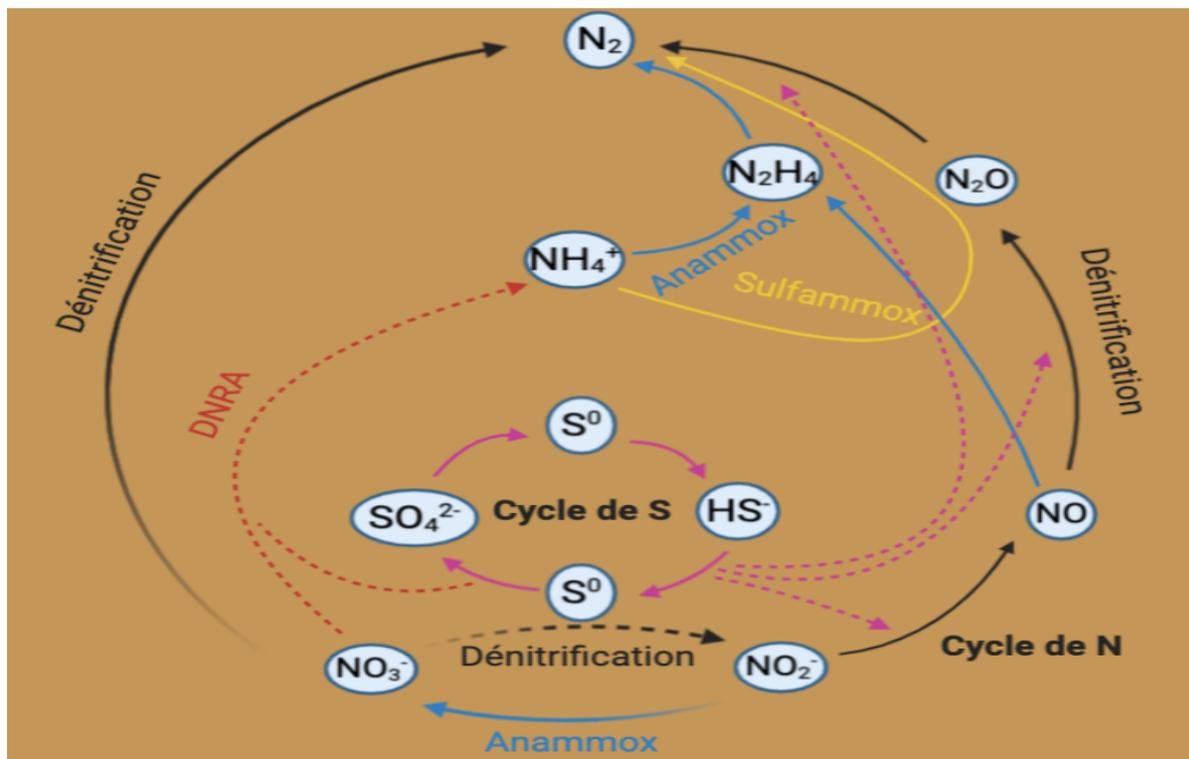


Figure 11 : Interactions possibles entre les cycles biogéochimiques de l'azote et du soufre dans les sédiments de mangrove (Rios-Del Toro et Cervantes 2019)

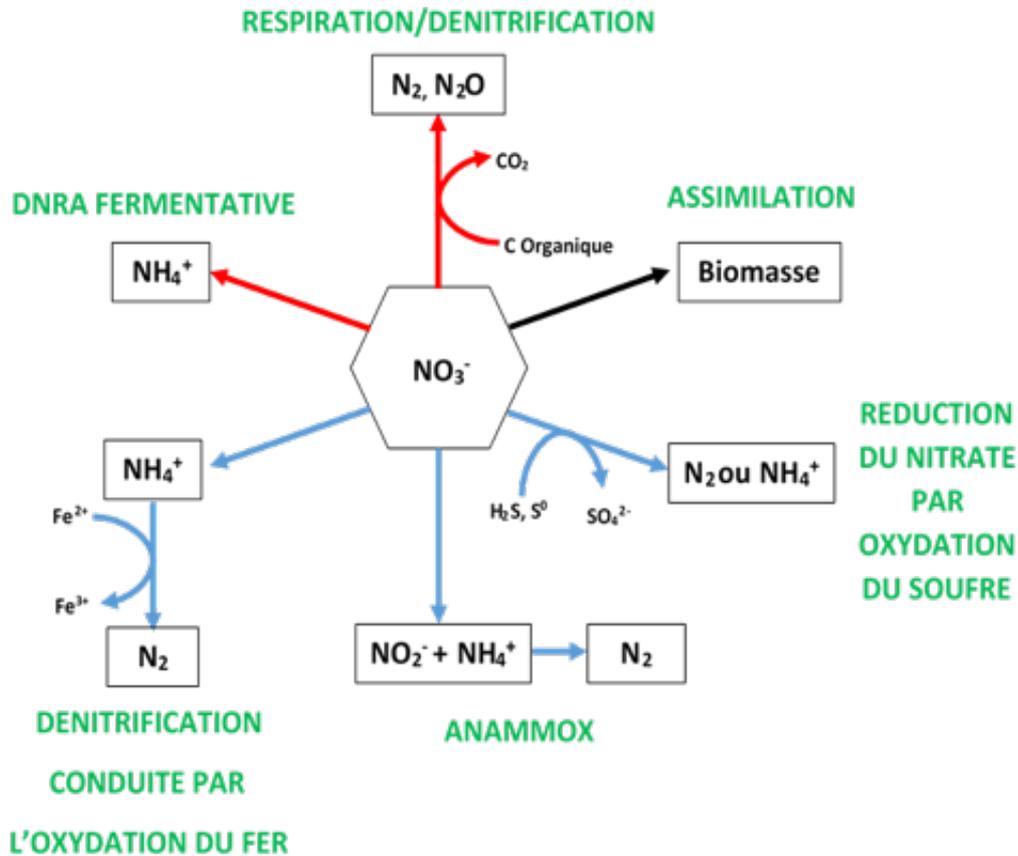


Figure 12 : Illustration des différentes voies possibles d'élimination du nitrate. Les flèches rouges représentent les voies hétérotrophes et les bleues les voies autotrophes (Burgin et Hamilton 2007)

1.2 Cadre de l'étude

La compréhension des mécanismes régissant le cycle de l'azote dans un écosystème donné est un enjeu considérable. En raison du rôle de l'azote en tant que nutriment limitant dans la production primaire, les processus qui influent sur sa disponibilité sont d'importants régulateurs des écosystèmes et de la biogéochimie mondiale (Thamdrup *et al.* 2002). L'activité humaine a modifié l'équilibre planétaire en particulier depuis le début de l'industrialisation. Les impacts anthropiques peuvent affecter les communautés bactériennes en particulier celles des groupes taxonomiques les moins abondants modifiant de façon significative le fonctionnement de l'écosystème (Ghizelini *et al.* 2012). L'élimination de l'azote dans les écosystèmes est devenue un enjeu environnemental car l'excès de nitrate engendre des déséquilibres dans les connexions environnementales au sein de la biosphère, en particulier au sein des milieux aquatiques. Les quantités d'azote exportées varient considérablement d'une région à l'autre et en moyenne 25% des apports anthropiques en azote arrivent au niveau de la zone côtière (Howarth *et al.* 1996). En effet, les hautes teneurs en nitrate dégradent la qualité

de l'eau et sont liées aux phénomènes d'eutrophisation et d'efflorescences d'algues et de cyanobactéries, en particulier dans les eaux marines côtières mais aussi au niveau des nappes d'eau potable mettant ainsi en danger la santé humaine (Burgin et Hamilton 2007).

En raison de leur proximité avec les centres de population, les mangroves ont toujours été des sites privilégiés pour l'évacuation des eaux usées (Kathiresan et Bingham 2001). Comme présenté dans les parties précédentes, l'écosystème mangrove est un hot spot de l'environnement des zones côtières en raison de la biodiversité des organismes qui s'y développent, de sa productivité, de sa capacité à recycler les nutriments. Dans les mangroves, la disponibilité des nutriments est contrôlée par de nombreux facteurs biotiques et abiotiques tels que le type et la texture du sédiment, les hauteurs de marées, l'état d'oxydoréduction, l'activité microbienne, les espèces végétales, la production et la décomposition de la litière, la température et la pluviométrie font que le cycles de l'azote dans les mangroves sont temporairement et spécialement variables (Middelburg *et al.* 1996b; Reef *et al.* 2010).

L'écosystème mangrove est très complexe à la vue de l'ensemble des processus antagonistes qui s'y déroulent et des interactions avec les autres cycles biogéochimiques. Peu d'études concernent les mangroves en milieu marin et il reste de nombreuses lacunes sur la compréhension du fonctionnement de la dynamique de l'azote dans ces milieux anoxiques riches en sulfures et en matière organique.

Les travaux réalisés au cours de cette thèse ont pour objectif de contribuer à l'amélioration des connaissances sur le cycle de l'azote dans les mangroves en milieu marin. Ce travail s'inscrit dans une démarche de compréhension des interactions entre le compartiment sédiment et les formes azotés nitrate, nitrite et ammonium dans le cadre d'impacts anthropiques. Les expérimentations se sont déroulées en Guadeloupe au sein de deux mangroves marines dont les caractéristiques respectives ont permis de soulever deux axes de recherches différents. Après une présentation des deux sites d'étude, les questions soulevées et le déroulé du manuscrit seront présentés dans cette partie.

1.2.1 Les mangroves en Guadeloupe

Située dans la mer des Caraïbes entre le tropique du Cancer et l'équateur, la Guadeloupe (16°15' de latitude Nord/ 61°35' de longitude Ouest), est un archipel qui s'étend sur 1638 km². La Guadeloupe est constituée par un ensemble d'îles et d'îlets. Deux îles principales et de leurs « dépendances » composées par les îles de Marie-Galante, des Saintes, de la Désirade et de

Petite-Terre. Une des îles est principale, la Grande-Terre (590 km²) est constituée par un plateau calcaire de basse altitude pour alors que la seconde la Basse-Terre (848 km²), est caractérisée par un relief plus montagneux constitué de sols volcaniques recouverts d'une forêt dense.

La Guadeloupe possède la plus grande superficie de mangrove des Petites Antilles (Spalding *et al.* 1997). Plusieurs estimations de la surface occupée par les zones humides de types mangrove ont été faites pour la Guadeloupe. Selon l'Atlas mondial des mangroves de 1997, les mangroves occupaient une surface de 39,83 km² (Spalding *et al.* 1997). L'étude thématique sur les mangroves de Guadeloupe réalisée par la FAO (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture estim) quant à elle cette surface à 29,50 km² (FAO 2005). Plus récemment l'analyse régionale Guadeloupe réalisée par le Parc National de Guadeloupe, l'agence des aires maritimes protégées et l'Université des Antilles estimait cette même surface à 33,48 km² en 2007 soit environ 2% de la surface de l'archipel guadeloupéen (Vaslet *et al.* 2013). Ce rapport indique aussi que 62% des mangroves de Guadeloupe sont en contact direct avec la mer ou l'eau libre des canaux et des rivières. La mangrove marine est située dans la zone de balancement des marées et la forêt se développe donc dans des boues salées plus ou moins détrempées. La forêt marécageuse située en retrait de la mangrove maritime ou au bord des rivières, a un aspect totalement différent et est dominée par un grand arbre aux contreforts puissants (Vaslet *et al.* 2013).

La présence de 6 espèces de palétuviers de 4 familles différentes est attestée dans les mangroves guadeloupéennes, *Acrostichum aureum*, *Avicennia germinans*, *Avicennia schaueriana*-*Conocarpus erectus*, *Laguncularia racemosa*, *Rhizophora mangle* (FAO 2005; Giry *et al.* 2017).

Les services écosystémiques de régulation fournis par les mangroves de Guadeloupe sont principalement liés à la régulation du climat global (flux biomasse et stockage dans les sédiments de carbone) et l'épuration des eaux continentales. Ces services basés sur l'étude de la productivité primaire et du recyclage des sédiments, sont respectivement évalués à 274 €.ha⁻¹ an⁻¹, 5880 €.ha⁻¹ et 11080 €.ha⁻¹ an⁻¹ (Giry *et al.* 2017).

Malgré la dégradation de cet habitat à l'échelle mondiale, les mangroves guadeloupéennes comme toutes les mangroves françaises sont globalement bien protégées et subissent des pressions modérées dues essentiellement à l'aménagement urbain et touristique même si les effets du changement climatique et la montée des eaux associée sont à surveiller. Les

mangroves sont souvent perçues par les populations locales comme des milieux insalubres et un frein au développement des territoires, il est donc nécessaire d'objectiver leur contribution réelle à l'économie du littoral (Giry *et al.* 2017). Dans le cadre d'un séminaire organisé par le muséum national d'histoire naturel et l'ONEMA en 2015, les pressions anthropiques affectant les mangroves de Guadeloupe ont été identifiées et hiérarchisées (Basilico *et al.* 2016). On répertorie ainsi les pressions liées à l'extension périurbaine (conversion des surfaces de mangrove par remblaiement), le curage et la rectification de canaux, les rejets d'eaux usées non traitées, le dysfonctionnement des stations de traitement des eaux usées, les rejets d'industries agroalimentaires, les décharges, les pesticides agricoles, les hydrocarbures ainsi que les métaux (zinc, plomb, étain) largués dans les zones portuaires.

Les mangroves françaises peuvent bénéficier de plusieurs types mesures de gestion et de protection pour être préservées. Depuis le 8 décembre 1993 environ 3700 ha de mangrove ont été inscrits sur la liste des zones humides d'importance internationale dans la cadre de la convention Ramsar. Cette convention vise à enrayer la dégradation et la perte de superficie des zones humides. En Guadeloupe la sauvegarde des mangroves est conduite par les collectivités territoriales, le Conservatoire du littoral, l'Office National des Forêts, l'Agence nationale des Aires Marines Protégées, le Parc National de Guadeloupe et la Direction de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement de Guadeloupe.

1.2.2 Les sites d'étude

1.2.2.1 La Manche-à-Eau

1.2.2.1.1 Description du site d'étude

Les échantillons ont été recueillis dans la lagune de la Manche-à-Eau (16°16'38.04''N, 61°33'27.93''O) en Guadeloupe, Antilles françaises. D'une superficie de 281.700 m² cette lagune de type mangrove en milieu marin est localisée au sud-ouest du Grand Cul-de-Sac-Marin (Mantran *et al.* 2009). Lagune marine en permanence inondée, semi-fermée et peu profonde (1-2 m de profondeur), la Manche à Eau communique avec la Rivière Salée comme présenté dans la Figure 13. Dans la Manche à eau, les courants généraux sont gouvernés en surface par des vents à dominante ouest, et par le va-et-vient de la marée (Mantran *et al.* 2008; Mantran *et al.* 2009). La "Manche-à-Eau" est influencée par des marées semi-diurnes caractérisées par un marnage maximum de 40 cm. À chaque marée, 15% du volume d'eau de la lagune est renouvelé (Assor R. 1987; Mantran *et al.* 2009). Au sein de la lagune, la salinité

et la température sont constantes et atteignent respectivement une moyenne de 35 % et 28 °C (Pascal *et al.* 2014).



Figure 13 : Localisation de la lagune de la Manche à Eau (Guadeloupe, Géoportail)

Dans le cadre de sa thèse, Aurélie Mothet a réalisé en 2013 un transect allant de la lagune vers les plaines agricoles en passant par la mangrove terrestre (représenté par le trait orange sur la Figure 13). La réalisation de ce transect dans la partie sud-ouest de la lagune a permis d'identifier 5 grands faciès comme présentés dans la Figure 14 (Mothet 2013).

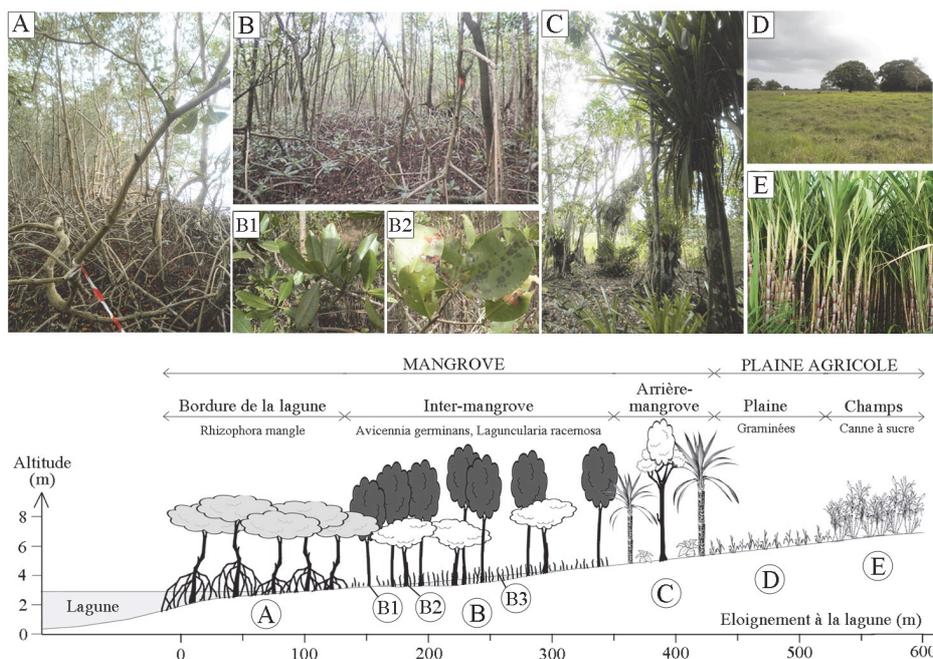


Figure 14 : Faciès de végétation rencontrés le long du transect « lagune-plaine agricole » autour de la lagune de la Manche à eau. La végétation n'est pas à l'échelle de l'altitude (Mothet 2013).

La zone d'étude possède les caractéristiques des mangroves de périphérie car elle est située en bordure de lagune et est en permanence inondée par les eaux marines ce qui la fait aussi rentrer dans la catégorie des mangroves submergées (point rouge Figure 13). Le site est occupé par des palétuviers rouges ou *Rhizophora mangle* aux pieds desquels un tapis microbien constitué principalement de bactéries filamenteuse sulfo-oxydantes de la famille des *Beggiatoaceae* est observé, dans les zones abritées du courant (patches blancs Figure 15).



Figure 15 : Photographie du tapis de *Beggiatoaceae* à proximité d'une racine de palétuvier (Crémière *et al.* 2017)

1.2.2.1.2 Originalité : le tapis microbien de *Beggiatoaceae*

1.2.2.1.2.1 Description du tapis microbien

Les communautés bactériennes qui se développent dans les mangroves tropicales et subtropicales sont très productives et diversifiées (Alongi 1988). Dans la zone d'étude, une partie des sédiments est recouverte par un tapis microbien de couleur prédominante blanche dispersé et visible à l'œil nu (Pascal *et al.* 2014; Jean *et al.* 2015; Crémière *et al.* 2017). Ce tapis recouvre les sédiments de façon localisée, on le retrouve dans les zones riches en matières organiques au niveau des racines de palétuviers dans les zones abritées du courant. Les tapis microbiens ressemblent à des paillasons qui peuvent être pelés entièrement de la surface sur laquelle ils sont posés se distinguant ainsi des biofilms de par leur taille et leur structure (Stal 2001). En raison de leur capacité à tolérer la salinité, la dessiccation, la température et le rayonnement ultraviolet, les tapis microbiens prolifèrent dans les écosystèmes aquatiques d'eau

douce ou d'eau salée, telles que les lagunes et les zones intertidales (Grant et Bathmann 1987; Stal 2001), les lacs (Sweerts *et al.* 1990; Sharrar *et al.* 2017) mais aussi au niveau des cheminées hydrothermales (Winkel *et al.* 2014; Teske *et al.* 2016) et des suintements froids (Arvidson *et al.* 2004) .

La nature des micro-organismes constituant les tapis microbiens va influencer les processus engagés. En effet, les tapis qui recouvrent les sédiments de mangroves, peuvent naturellement atténuer les entrées d'azote inorganique dissout anthropique (Lee et Joye 2006; Lee *et al.* 2008). L'étude des taux de dénitrification et de fixation d'azote par Lee et Joye en 2006 sur un tapis constitué de cyanobactéries et de bactéries sulfureuses pourpres, localisé dans la mangrove des Twin Cays (Belize) a démontré que la fixation de l'azote varie en fonction du type de cyanobactéries qui prédomine dans le tapis. Le tapis contenant les cyanobactéries possédant des hétérocystes présente un taux de fixation maximal de l'azote de $80 \mu\text{mol N}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ en journée alors que celle qui ne possède pas ces cellules spécialisées a un taux de fixation de $40 \mu\text{mol N}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$.

Le tapis microbien qui recouvre les sédiments de la zone d'étude est principalement composé de bactéries appartenant aux genres *Beggiatoa* et *IsoBeggiatoa* de la famille des *Beggiatoaceae* (Jean *et al.* 2015). Les bactéries de la famille des *Beggiatoaceae* sont des bactéries filamenteuses multicellulaires sulfo-oxydantes (Jørgensen 1977a; Schulz et Jørgensen 2001; Peixoto de Albuquerque *et al.* 2010; Salman *et al.* 2013). Ces filaments de couleur blanche comportent des inclusions de soufre élémentaire et certaines espèces possèdent des grandes vacuoles aqueuses internes qui peuvent servir au stockage du nitrate (Hatton *et al.* 1996; Mußmann *et al.* 2007; Preisler *et al.* 2007; Jørgensen 2010; Beutler *et al.* 2012; Salman *et al.* 2013). Ubiquistes, les bactéries du genre *Beggiatoa* se retrouvent dans les eaux douces et dans les environnements marins où elles forment des couches de quelques millimètres à quelques centimètres d'épaisseur. Elles occupent les sédiments de milieux variés allant des eaux de haute mer aux eaux peu profondes en passant par les cheminées hydrothermales (Grant et Bathmann 1987; Sweerts *et al.* 1990; Fenchel et Bernard 1995; Jørgensen 2010; Winkel *et al.* 2014; Teske *et al.* 2016; Yücel *et al.* 2017). On distingue ainsi trois grands types de *Beggiatoaceae* en fonction de leur taille et du milieu dans lequel elles se développent (Teske et Nelson 2006; Salman *et al.* 2013) :

- Les filaments d'eau douce hétérotrophes qui n'ont pas de vacuole et un diamètre inférieur à $4 \mu\text{m}$;

- Les filaments marins autotrophes dépourvus de vacuoles et un diamètre maximal d'environ 10 μm ;
- Les filaments marins autotrophes possédant des vacuoles permettant le stockage de nitrate et de diamètre supérieur à 10 μm .

Ces filaments multicellulaires sont mobiles grâce à un système de glissement (Jørgensen 1977b), et peuvent se déplacer à une vitesse de 1,5 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ (Peixoto de Albuquerque *et al.* 2010). Ce système leur permet de maintenir leur croissance grâce à un phénomène de migration dans le sédiment en fonction de leurs besoins en sulfures, oxygène ou nitrate (Hatton *et al.* 1996; Arvidson *et al.* 2004). En effet, pour se développer les membres de ce genre ont besoin à la fois de H_2S et d'oxygène. Le sulfure d'hydrogène n'étant pas stable en condition oxiq, ces bactéries se développent à la zone de transition des environnements oxiqes et anoxiqes où l' O_2 de l'eau de mer et H_2S provenant du sédiment sont en permanence fournis par diffusion (Jørgensen 1977b; Lens et Kuenen 2001; Jørgensen 2010; Jean *et al.* 2015). De plus il a été démontré que certaines espèces de *Beggiatoa* peuvent conserver en conditions anaérobies leur énergie en couplant l'oxydation des sulfures avec la réduction des nitrates en diazote ou en ammonium (Sweerts *et al.* 1990; Mußmann *et al.* 2003; Kamp *et al.* 2006; Teske et Nelson 2006; Winkel *et al.* 2014; Teske *et al.* 2016).

À l'interface entre les milieux marins et terrestres, les mangroves sont des milieux propices au développement des *Beggiatoa*. Le sédiment marin entourant les racines de palétuviers est anoxique et riche en matière organique (Gontharet *et al.* 2017), ce qui va soutenir l'activité des bactérie sulfato-réductrices. Cette activité va à son tour permettre le développement des bactéries sulfo-oxyantes grâce à la production des sulfures indispensables à leur croissance lors de la dégradation de la matière organique (Crémière *et al.* 2017).

Le tapis est constitué d'un enchevêtrement de filaments de *Beggiatoa* et de cyanobactéries dans lequel on peut aussi retrouver des diatomées, des annélides et des nématodes. Ce tapis est principalement constitué par 2 nouvelles espèces de *Beggiatoaceae* benthiques *Candidatus Maribeggiatoa* sp. et *Candidatus Isobeggiatoa* sp. et 4 espèces de cyanobactéries, 2 espèces d'*Oscillatoria* et 2 espèces de *Planktothricoides* (Figure 16). La composition du tapis varie au cours du temps et certaines espèces peuvent être en plus ou moins grande quantité voir complètement absentes, excepté les filaments d'*IsoBeggiatoa* qui sont omniprésents. Ces tapis mixtes constituent une cohabitation entre les organismes où chacun peut partager une strate qui

peut varier en fonction des conditions du milieu (Fenchel et Bernard 1995; Mußmann *et al.* 2007).

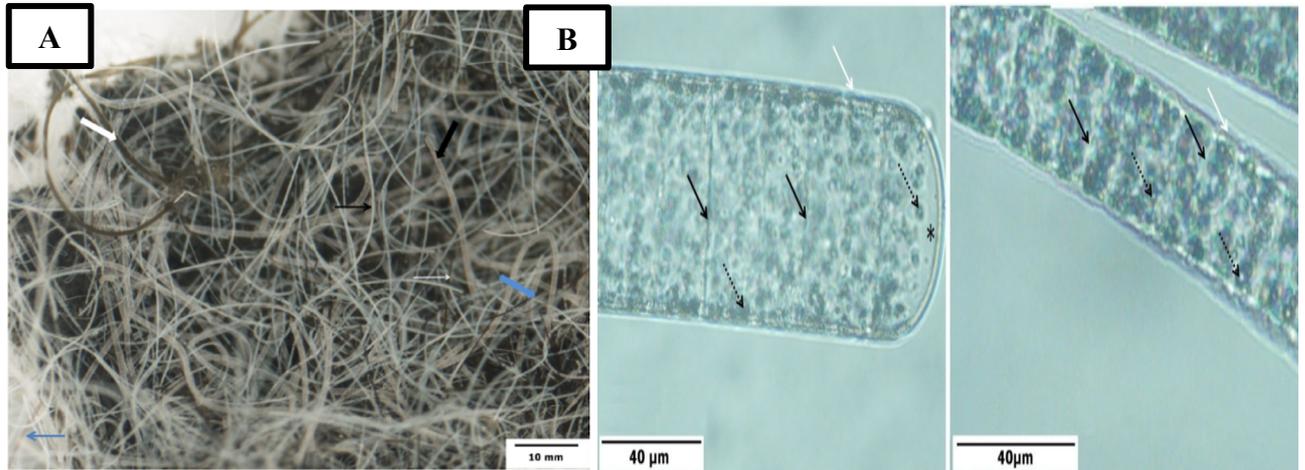


Figure 16 : Caractérisation du tapis microbien ; **A** : Photographie du tapis microbien observé à la loupe binoculaire mettant en évidence les *Candidatus Maribeggiatoa* sp. (flèche pleine noire ; gros filament blanc), les *Candidatus Isobeggiatoa* sp. (petite flèche noire ; petit filament blanc), *Planktothricoides* sp 1 (petite flèche bleue ; filament rose) ; les *Planktothricoides* sp 2 (flèche pleine bleue ; filament noir), les *Oscillatoria princeps* (flèche pleine blanche ; gros filament vert), et les *Oscillatoria spongelia* (petite flèche blanche ; petit filament vert). **B** : Photographie des filaments de *Candidatus Maribeggiatoa* sp. à droite et de *Candidatus Isobeggiatoa* sp. à gauche observés en microscopie photonique. Les membranes internes sont mises en évidence par les flèches noires, la gangue externe par les flèches blanches et les vacuoles internes par les flèches en pointillés. L'étoile représente l'apex du filament de l'*Isobeggiatoa* sp. (Jean 2013).

Les deux types filaments de *Beggiatoa* qui composent le tapis microbien ont la même structure à savoir un empilement de cellules discoïdes entourées par une membrane interne et une membrane externe qui contient des granules de soufre. Dans sa thèse, Jean Maïténa indique que le centre de la cellule est composé d'un espace vide qui projette tout le contenu cytoplasmique contre la membrane externe. Cet espace vide laisse penser à une grande vacuole sans membrane intracytoplasmique susceptible de stocker du nitrate, cependant en l'absence d'information sur la nature de ces vacuoles il n'est pas possible de conclure sur le métabolisme de l'azote dans ces deux espèces de *Beggiatoa* (Jean *et al.* 2015).

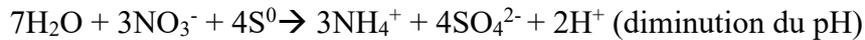
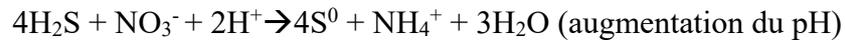
1.2.2.1.2.2 Fonctionnement du tapis microbien

Les *Beggiatoacea* peuvent jouer un rôle important dans le recyclage des éléments nutritifs car leur activité fait intervenir des processus qui lient les cycles de l'azote, du soufre et du carbone. Pour se développer les *Beggiatoacea* autotrophes fixent le carbone à partir du CO₂ dissout dans l'eau de mer (Nelson et Jannasch 1983; Mußmann *et al.* 2007), et certaines espèces sont aussi capables d'utiliser l'acétate comme source de carbone (Hatton *et al.* 1996). Pour se faire, les *Beggiatoacea* utilisent les sulfures ou le soufre élémentaire S⁰ qu'elles stockent sous forme

de granules au niveau d'invaginations intracellulaires comme donneur d'électrons pour la fixation du CO₂ (Jørgensen 1977a; Nelson et Jannasch 1983; Nelson *et al.* 1986; Grant et Bathmann 1987; Fenchel et Bernard 1995; Hatton *et al.* 1996; Teske et Nelson 2006; Jørgensen 2010). Lorsque l'oxygène et les sulfures ne sont pas en quantités limitantes, l'accepteur d'électrons pour l'oxydation des sulfures est le dioxygène (Nelson *et al.* 1986; Hatton *et al.* 1996). L'étude d'une espèce de *Beggiatoa* marine par Nelson en 1986 a démontré que lorsque les sulfures sont abondants dans le milieu, ces derniers sont prioritairement oxydés sous forme de soufre élémentaire en raison d'une consommation de 0,6 mole de H₂S pour 1 mole d'O₂. Alternativement, en cas de limitation en sulfures pour couvrir leur besoin énergétique, les bactéries peuvent utiliser ce soufre élémentaire comme donneur d'électron afin de réaliser l'oxydation complète des sulfures en sulfate (Grant et Bathmann 1987; Bernard et Fenchel 1995). Les granules de soufre élémentaire servent donc de réserve et peuvent disparaître si les bactéries sont maintenues dans un milieu dépourvu de sulfures alors que le sulfate lui va être rejeté dans le milieu.

Les *Beggiatoacea* peuvent accumuler jusqu'à 500 mM de nitrate dans les vacuoles, en retenant ainsi le nitrate elles sont en compétition directe avec les bactéries dénitrifiantes (Lens et Kuenen 2001; Mußmann *et al.* 2007). Les voies métaboliques d'utilisation du nitrate comme accepteur d'électrons terminal par les *Beggiatoacea* ne sont pas très clairement identifiées. En effet, certaines espèces semblent être capables de réduire le nitrate en ammonium suivant le mécanisme de DNRA (section 1.1.2.4.2.2) alors que d'autres produiraient du diazote via la dénitrification (Jørgensen et Nelson 2004). L'étude d'un filament d'une espèce de *Beggiatoace* marine par Mußmann (2007) a permis d'identifier plusieurs enzymes intervenant dans le processus de dénitrification, deux types d'enzymes réductrices d'oxyde nitrique et une nitrite réductase ont été retrouvées dans ce filament. Dans la même étude, les filaments ont été soumis à de l'acétylène pour bloquer la dernière étape de la dénitrification. Suite à ce blocage, une production d'oxyde nitreux a été enregistrée ce qui confirme la piste de la dénitrification (maximales [N₂O]_{tapis} = 0.018mM ; [N₂O]_{hors tapis} = 0.004mM). Cependant il semblerait que la DNRA réalisée par les *Beggiatoacea* soit un processus important dans le cycle de l'azote via la production d'une source d'ammonium pour les eaux interstitielles des eaux côtières (Bohlen *et al.* 2011). En anaérobie, les *Beggiatoaceae* réduisent le nitrate des vacuoles en ammonium ce qui leur permettrait d'économiser de l'énergie et d'accumuler du soufre élémentaire (Jørgensen et Nelson 2004; Jørgensen 2010). L'oxydation des sulfures par la voie DNRA se réalise en deux étapes (Equation 6). Cette réaction est globalement neutre mais les

Beggiatoaceae peuvent faire varier le pH dans la zone suboxique en favorisant l'une des deux étapes (Burdorf *et al.* 2016) :



Equation 6 : Réaction de DNRA

Les *Beggiatoacea* sont donc des réservoirs de stockage à la fois pour le nitrate soluble qui est un accepteur d'électrons et pour le soufre élémentaire qui est un donneur d'électrons solide. En fonction de leurs besoins, les bactéries vont se déplacer le long des interfaces de diffusion des substrats nécessaires à leur fonctionnement (Nelson *et al.* 1986; Jørgensen 2010). Les filaments vont donc faire la navette entre la couche anoxique du sédiment où ils récupèrent les sulfures et l'interface oxiq-anoxiq où l'O₂ de la colonne d'eau va permettre l'oxydation des sulfures (Sayama *et al.* 2005; Jean 2013). Ainsi les *Beggiatoacea* peuvent créer une zone appauvrie en H₂S dans les sédiments qui va influencer la voie métabolique d'élimination du nitrate (DNRA ou dénitrification). En effet la DNRA sera favorisée en présence de hautes concentrations en sulfures au détriment de la dénitrification qui elle est favorisée quand les concentrations en sulfures sont faibles (An et Gardner 2002). En élimant le nitrate et en utilisant les sulfures qui sont toxiques pour d'autres organismes, les *Beggiatoacea* pourraient potentiellement détoxifier les sédiments de l'écosystème mangrove.

1.2.2.2 Le canal des Rotours

1.2.2.2.1 Description du site d'étude

Le Canal des Rotours est situé sur la commune de Morne-à-l'Eau. Ce canal qui mesure 6 km a été creusé au 19^{ème} siècle durant la période de l'esclavage afin de permettre le drainage de la Plaine de Grippon et accélérer le transport fluvial sur la Grande Terre. Suite aux avancées techniques en matière de transport réalisées au 20^{ème} siècle (amélioration du réseau routier et arrivée des véhicules sur l'île), le canal va perdre son importance et se limiter à ses fonctions de drainage de la plaine. Le lit du canal a une largeur qui varie entre 18 et 30 mètres et une profondeur maximale de 2,9 m (Barbeyron 2014). Le canal se décompose morphologiquement en deux parties. Une première partie que l'on peut qualifier d'anthropisée qui traverse la ville de façon rectiligne. La deuxième partie sinueuse est occupée par des zones de mangrove de plus en plus dense en allant vers l'embouchure (Figure 17).

La commune de Morne-à-l'Eau rejette ses effluents de station d'épuration des eaux usées (STEP) directement dans le canal. Depuis octobre 2016, une nouvelle STEP d'une capacité de 8000 équivalents habitant (EH) a été mise en service pour remplacer l'ancienne qui était devenue obsolète. Cette nouvelle installation comme la précédente rejette ses effluents dans le canal au même point de rejet représenté par le point rouge sur la Figure 17.



Figure 17 : Localisation du Canal des Rotours (Guadeloupe.Géoportail). Localisation de la station d'épuration (rond rouge).

Le long du canal, la mangrove est principalement constituée de *Rhizophora mangle*. Le canal et les zones de mangrove étudiées sont en permanence inondés et soumis à la marée, ce qui entraîne une stratification de la salinité. Au niveau de la STEP, la couche de surface (60 premiers centimètres) est constituée d'eau douce. La couche sous-jacente quant à elle est constituée d'eau de mer. Plus l'on se rapproche de l'embouchure de la mangrove plus la strate « eau de mer » s'épaissit jusqu'à disparition de celle formée par l'eau douce. La salinité varie entre 5.6 et 35.2 ‰ dans la colonne d'eau (Barbeyron 2014). La zone d'étude possède les caractéristiques des mangroves de bord de rivière car elle borde le canal de part et d'autre. Cependant plus on se dirige vers l'embouche plus cette dernière s'apparente au type « mangrove de périphérie » car elle est directement soumise au milieu marin.

1.2.2.2.2 Originalité : de la station d'épuration en milieu urbain vers un milieu naturel

L'augmentation de la demande en azote pour les activités humaines telles que l'agriculture, et l'industrie a bouleversé l'équilibre du cycle biogéochimique de l'azote (Gruber 2008;

Galloway *et al.* 2014). L'excès d'azote réactif en raison des activités anthropiques est de plus en plus important ce qui affecte la composition et le fonctionnement des milieux aquatiques et terrestres (Galloway *et al.* 2008). La charge excessive en nutriments azotés contenue dans les eaux usées est une menace majeure pour la qualité de l'eau (Carey et Migliaccio 2009). L'augmentation de la population à l'échelle mondiale accroît la demande en eau ce qui nécessite en pratique la mise en place de systèmes d'assainissement adaptés à ces quantités d'eau usées de plus en plus importantes. Cependant l'explosion démographique urbaine, la faiblesse des moyens financiers et matériels ainsi que la mauvaise gestion des eaux usées font qu'aujourd'hui l'assainissement est devenu une problématique environnementale majeure (Kivaisi 2001). En effet, les rejets des systèmes de traitement des eaux usées quand ils existent se font inéluctablement en milieu naturel (Lee *et al.* 2009).

De nos jours de nombreuses mangroves jouent le rôle informel de zone d'atténuation des pollutions (Wickramasinghe *et al.* 2009). En effet, de manière générale, cet écosystème fonctionne comme une zone tampon efficace et joue le rôle de filtre biologique en luttant contre l'eutrophisation et en piégeant les nutriments et/ou les contaminants en excès (Corredor et Morell 1994; Lin et Dushoff 2004; Ahad *et al.* 2006). En dépit d'être riches en matière organique, les sols de mangroves sont généralement déficients en éléments nutritifs, ce qui suggère une grande capacité à recycler les nutriments inorganiques durant la décomposition de la litière (Alongi 1996; Alongi *et al.* 1999; Lee *et al.* 2008; Bouillon *et al.* 2008a; Fernandes *et al.* 2012a; Deborde *et al.* 2015a; Reis *et al.* 2017b; Reis *et al.* 2017a). Ces dernières années, les capacités de bio-épuration des mangroves ont fait l'objet d'études concernant leur exploitation comme système de traitement alternatif des eaux usées et des effluents d'aquaculture. Les communautés bactériennes qui s'y développent sont très productives, diversifiées et peuvent atténuer naturellement les intrants d'azote inorganique dissous d'origine anthropique (Holguin *et al.* 2001; Lee et Joye 2006; Lee *et al.* 2008; Pramanik *et al.* 2018). Les communautés bactériennes des sols de mangrove sont capables de traiter l'azote inorganique contenu dans les eaux usées (Corredor & Morell 1994). En effet, dès 1975, Nedwell suggère que le haut potentiel de dénitrification des sols de mangrove peut être détourné afin d'utiliser ce processus comme traitement des eaux usées secondaires. Selon Ouyang (2016), l'utilisation des mangroves pour le traitement des eaux usées peut être classée en trois catégories basées sur le principe de dépollution des effluents grâce à ces deux compartiments à savoir la végétation et les sédiments via l'activité microbienne qu'ils soutiennent : les mangroves naturelles, les mangroves artificielles et les mangroves couplées à l'aquaculture. Face à une exposition

d'éléments nutritifs, la réponse des mangroves va dépendre du type de nutriments et des caractéristiques des différents types de mangroves ainsi que des processus qui en découlent (Wong *et al.* 1997; Ye *et al.* 2001; Feller *et al.* 2003b; Herteman 2010; Lambs *et al.* 2011).

L'assainissement des eaux usées fait partie des principales sources de pollution du milieu aquatique par l'azote anthropique (Brix 1994; Henze et Comeau 2008; Akpor 2011). Pour traiter les eaux usées de façon adaptée, il est nécessaire de connaître leur origine afin d'identifier au mieux les contaminants à éliminer. Plusieurs éléments rentrent dans la composition des eaux usées domestiques, ces composants ainsi que les dangers qu'ils représentent sont présentés dans le tableau suivant (Mara 2003; Henze et Comeau 2008). Le choix de la filière de traitement dépend de la nature et de la quantification des eaux usées à traiter, des contraintes du milieu récepteur (occupation de l'espace, faune, flore, patrimoine, sensibilité), des contraintes économiques et de l'impact sur le cadre de vie et la santé (odeur, bruit, impact visuel...). En Guadeloupe de par la concentration de l'habitat et des constructions, la population raccordée à l'assainissement collectif est estimée à 160.000 habitants soit seulement 40 % (chiffres 2016 de la Direction de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement) ce qui fait de l'assainissement un enjeu environnemental incontournable.

Tableau 5 : Récapitulatif des constituants présents dans les eaux domestiques (Henze et Comeau 2008)

Constituants		Risques associés
Matière organique biodégradable (MOB)	Protéines, carbohydrates et graisses	Diminution de l'oxygène dans le milieu- Mort des organismes- Odeur
Matière inorganiques dissoutes	Acides-Bases- Métaux (Pb, Hg, Cd, Cr, Cu, Ni)	Toxicité, bioaccumulation, corrosion
Matières réfractaires	Phénols, pesticides, détergents, solvants, colorants	Toxicité, inconvénients esthétiques, bioaccumulation
Nutriments	Azote, phosphore, carbone	Eutrophisation- Diminution en oxygène
Matières en suspension (MES)	Matières non dissoutes organique ou minérale	Diminution en oxygène- Modification dans la composition des peuplements benthiques
Micro-organismes pathogènes	Bactéries et virus	Baignade- Ingestion

Les normes de rejet concernant les rejets azotés sont amenées à devenir de plus en plus strictes et il sera nécessaire à l'avenir de mettre à jour les technologies d'élimination de ces composés afin de remplacer systèmes classiques de traitement des eaux usées qui sont énergivores et nécessitent des investissements financiers colossaux par des techniques alternatives (Rios-del Toro et Cervantes 2016). De ce fait, la compréhension des processus d'élimination de l'azote

est devenue un enjeu d'importance pour la protection des écosystèmes. De plus en plus de zones humides artificielles sont mises en place afin de remplacer les usines classiques, car elles représentent des solutions moins coûteuses et plus faciles à entretenir (Brix 1994; Kivaisi 2001; Lee *et al.* 2009). Ces techniques extensives comme le lagunage et les filtres plantés qui se basent sur le principe de la phyto-épuration (algues et bactéries) pour éliminer les composés azotés présents dans les eaux usées reproduisent les processus épuratoires réalisés au sein des zones humides (Mara 2003; Vymazal 2008; Vymazal 2011).

Cela fait des années que l'efficacité des zones humides pour éliminer les nutriments azotés a été démontrée (Nichols 1983; Howard-Williams 1985; Fisher et Acreman 2004). Les zones humides sont des zones qui partagent les propriétés des systèmes terrestres et aquatiques. Le cycle de l'azote y est très complexe et se base sur les mécanismes d'absorption, de libération et d'échanges entre les compartiments constitués par les sédiments, les micro-organismes, la végétation, la faune, l'eau interstitielle, la colonne d'eau et l'atmosphère (Howard-Williams 1985). Comme présentés dans le chapitre 1.1.2.4.2, plusieurs processus affectent l'élimination et la rétention de l'azote dans les zones humides : la dénitrification, l'absorption végétale et microbienne, la DNRA, l'Anammox, l'enfouissement et la lixiviation (Vymazal 2007). La reconnaissance de cette capacité naturelle à l'élimination de l'azote a donné un regain d'intérêt pour les zones humides dans le monde entier. Longtemps considérées comme insalubres et pestilentielles, elles ont longtemps été laissées à l'abandon. Désormais, elles sont réhabilitées et préservées pour exploiter au mieux cette capacité naturelle d'élimination de l'azote (Meli *et al.* 2014).

La station présente dans la zone d'étude ne recevant pas de rejets industriels, seul le traitement des eaux domestiques fera l'objet du présent manuscrit avec l'étude du devenir des nitrates issus de ce type d'effluents.

Les processus d'élimination du nitrate sont médiés dans les sédiments côtiers par les micro-organismes et sont influencés par divers facteurs physiques telles que la température et la salinité (Ye *et al.* 2001; Shiao *et al.* 2016; Shiao *et al.* 2017), la disponibilité en nitrate et du carbone labile (Corredor et Morell 1994; Chiu *et al.* 2004; Pulou *et al.* 2012; Kraft *et al.* 2014) :

- Les taux de réduction potentiels du nitrate sont positivement corrélés avec les quantités disponibles de nitrate (King et Nedwell 1985; Fernandes et Loka Bharathi 2011).
- Les temps de contact entre le nitrate et le micro-organismes ont aussi une influence sur les taux de réduction (Pallud *et al.* 2007). Une diminution de débit va engendrer une

augmentation du temps de résidence dans le milieu du nitrate, la consommation du nitrate va alors augmenter (Woltemade et Woodward 2008; Chen *et al.* 2017).

- La disponibilité du carbone et sa nature sont également des facteurs clés dans le contrôle des taux de réduction. En effet comme la dégradation de la litière et les processus d'élimination du nitrate sont réalisés par des hétérotrophes, la qualité du C peut donc expliquer des différences dans les taux d'élimination de NO_3^- (Hume *et al.* 2002; Chen *et al.* 2017). En 2016, Shiau et al. ont observé une augmentation de l'activité de l'enzyme de dénitrification dans les sédiments de mangrove dans l'estuaire de Tamsui à Taiwan. L'activité enzymatique a significativement augmenté après l'ajout de glucose et de sucrose mais pas de mannitol. Cette expérience met en exergue la sélectivité des bactéries vis-à-vis des sources de carbone qui leurs sont fournies. Les quantités de carbone labiles disponibles influencent aussi la réduction du nitrate, il existe une corrélation positive entre les quantités fournies et les taux de réduction (Yang *et al.* 2015).

L'augmentation des rejets d'effluents dans les mangroves pourraient bouleverser les équilibres biogéochimiques au sein de cet écosystème. Mais qu'en est-il dans les sédiments de mangrove en milieu marin ? L'originalité de la thèse est d'étudier comment la variation des concentrations en nitrates, des temps de rétention, de la quantité et de la qualité du carbone et comment la présence du tapis microbien impactent les dynamiques d'élimination du nitrate dans les sédiments étudiés.

1.2.3 Organisation et objectifs du travail de thèse

Ce travail de thèse a été centré sur l'étude des processus au sein des sédiments de surface anoxiques de mangroves dites marines. Plus globalement, ce travail s'inscrit dans une démarche de compréhension de la réponse du milieu mangrove vis-à-vis des impacts anthropiques au travers d'une approche biogéochimique intégrée permettant une meilleure caractérisation et quantification des différents processus mis en jeu.

L'augmentation des rejets d'effluents dans les mangroves pourraient bouleverser les équilibres biogéochimiques au sein de cet écosystème. Mais qu'en est-il dans les sédiments de mangrove en milieu marin ? L'originalité de la thèse est d'étudier comment la variation des concentrations en nitrates, des temps de rétention, de la quantité et de la qualité du carbone et comment la présence du tapis microbien impactent les dynamiques d'élimination du nitrate

dans les sédiments étudiés. Pour tenter de répondre à cette problématique, cette thèse s'est structurée autour de plusieurs grandes questions s'articulant autour de deux axes de recherche. A noter que les hypothèses de recherche seront exposées en début de chaque partie.

- ❖ Réactivité de la matière organique dans les sédiments anoxiques de mangrove marine :
Comment est caractérisée la minéralisation de la matière organique dans les sédiments étudiés ? Dans quelle mesure les cycles biogéochimiques de l'azote, du soufre et du carbone interagissent ? Quelle est l'influence du tapis microbien sur les processus en présence ? Quelles sont les voies dominantes de la réduction du nitrate dans les sédiments de mangrove ? Quels paramètres jouent un rôle clé sur la réduction du nitrate dans les sédiments étudiés ?

- ❖ Ingénierie écologique : Peut-on utiliser cette aptitude de bio-remédiation pour le traitement des effluents de station d'épuration ? Quelles sont les limites de cette utilisation ? Quels sont les taux potentiels de réduction du nitrate ? Dans quelles mesures est-il possible d'optimiser cette élimination ?

Afin de répondre aux différentes problématiques, diverses techniques d'analyses biogéochimiques ont été utilisées (Tableau 6). Le suivi des cinétiques d'éliminations du nitrate et l'étude de la dégradation de la matière organique ont été déterminées grâce à des incubations contrôlées en laboratoire en batch ou en réacteur à flux continu. Les concentrations des molécules d'intérêt dans le milieu et suite aux incubations ont été déterminées par dosages colorimétriques. Les analyses isotopiques ont permis de préciser les voies métaboliques d'élimination du nitrate en présence dans les sédiments étudiés.

Tableau 6 : Démarche scientifique et objectifs de la thèse

Enjeu de l'étude	Contexte	Problématiques	Stratégie	Chapitres
Réactivité de la matière organique	Site d'étude N°1 Manche à Eau. Présence du tapis microbien	Etude des processus de dégradation et de recyclage de la matière organique et influence du tapis microbien	Profils/Flux Minéralisation de l'azote Sulfato-réduction Incubations (batch+ flux continu) Isotopie	3
		Réduction du nitrate et influence du tapis microbien	Incubation (flux continu)	3-4
		Caractérisation des voies d'élimination du nitrate	Incubation (flux continu) Isotopie	4
Ingénierie environnementale (biotechnologie environnementale)	Site d'étude N°2 Canal des Rotours. Sortie de station d'épuration. Contraintes environnementales différentes	Détermination des taux potentiels de réduction du nitrate	Incubation (flux continu)	5
		Optimisation de l'élimination du nitrate	Incubation (flux continu) Management écologique	5
<p>Conclusion</p> <p>Interactions des cycles C, N et S, Voies préférentielles d'élimination du nitrate, Taux de réduction, Utilisation des mangroves zone de traitement des effluents, Ingénierie écologique</p>				

2 Matériels et méthodes

2.1 Prélèvement et traitement des échantillons

Des prélèvements de feuilles de palétuvier, de sédiments, de tapis microbien et d'eau interstitielle ont été échantillonnés lors des campagnes réalisées en décembre 2015, septembre, novembre et décembre 2016 et en mars, juin, juillet, août, septembre et octobre 2017.

2.1.1 Sédiments, eaux porales et eau de surface

Les sédiments ont été prélevés selon deux méthodes. Les sédiments de surface ont été récupérés grâce à une pelle manuelle (2 premiers cm) ou à l'aide d'un carottier en Plexiglas® (

Figure 20). Cette couche a été choisie car ce sont dans les premiers centimètres de profondeur des sédiments de mangrove qu'ont lieu les processus d'élimination du nitrate que l'on souhaite étudier (Fernandes et Loka Bharathi 2011). Ce carottier est percé tous les deux centimètres afin de permettre le prélèvement des eaux porales. Afin de garantir l'étanchéité du système lors du prélèvement, les trous du carottier sont recouverts par un ruban adhésif résistant à l'eau avant échantillonnage. Pour l'ensemble des prélèvements, les zones racinaires ont été évitées de façon à ignorer l'assimilation des plantes.

Trois types de sédiments ont fait l'objet de prélèvements :

Deux types de sédiments ont été prélevés au niveau de la Manche-à-Eau. Les zones de prélèvements sont localisées dans la zone sud-est de la lagune aux coordonnées GPS 16°16'38.04''N, 61°33'27.93''O comme présenté dans Figure 18.

- Les sédiments localisés au niveau des racines submergées des palétuviers sur lesquels on retrouve le tapis microbien (sédiment sous tapis microbien [ST]). La nature du sédiment a permis une pénétration du carottier jusqu'à 30 cm de profondeur en moyenne.
- Les sédiments sans tapis microbien (sédiments hors tapis microbien [HT]) situés dans une zone sans palétuviers localisée à quelques mètres des ST. Dans ce type de sédiments, la pénétration du carottier était limitée à 15 cm. Cette limitation est due à l'abondance de carbonates d'origine biogénique et au contenu argileux qui est nettement inférieur à celui des sédiments ST (Gontharet *et al.* 2017).

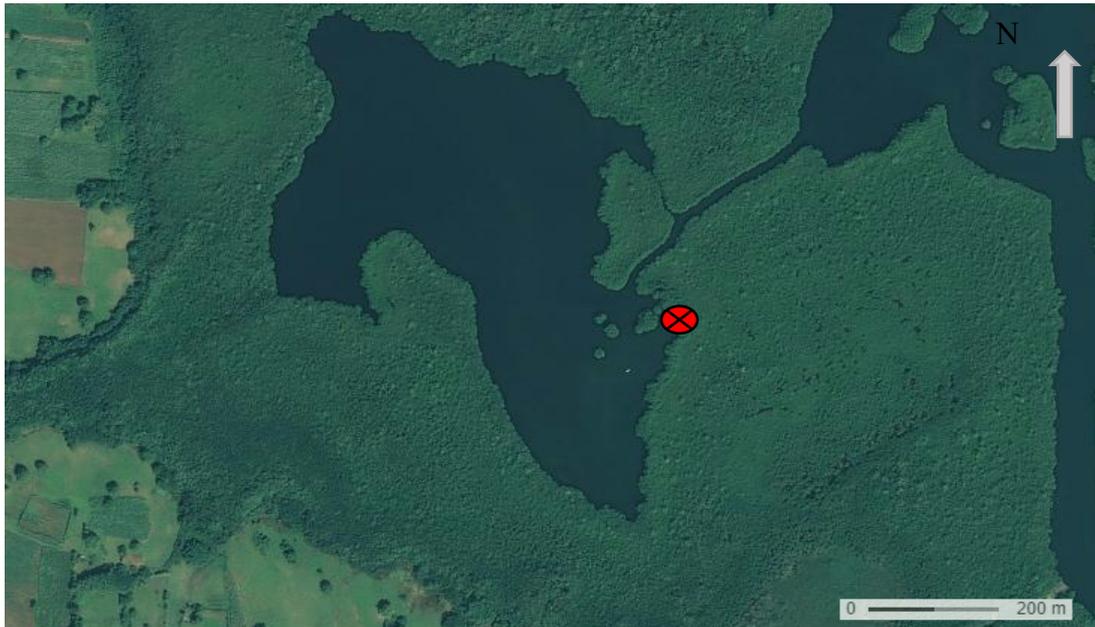


Figure 18 : Localisation du site de prélèvement des sédiments avec tapis microbien et hors tapis dans la lagune de la Manche-à-eau en Guadeloupe (Géoportail)

Les sédiments de surface ont été prélevés au niveau du Canal des Rotours. Les prélèvements ont été fait le long du canal de la STEP à l'embouchure comme présenté en Figure 19. Pour une station donnée, seuls les 2 premiers centimètres de sédiments ont été échantillonnés.

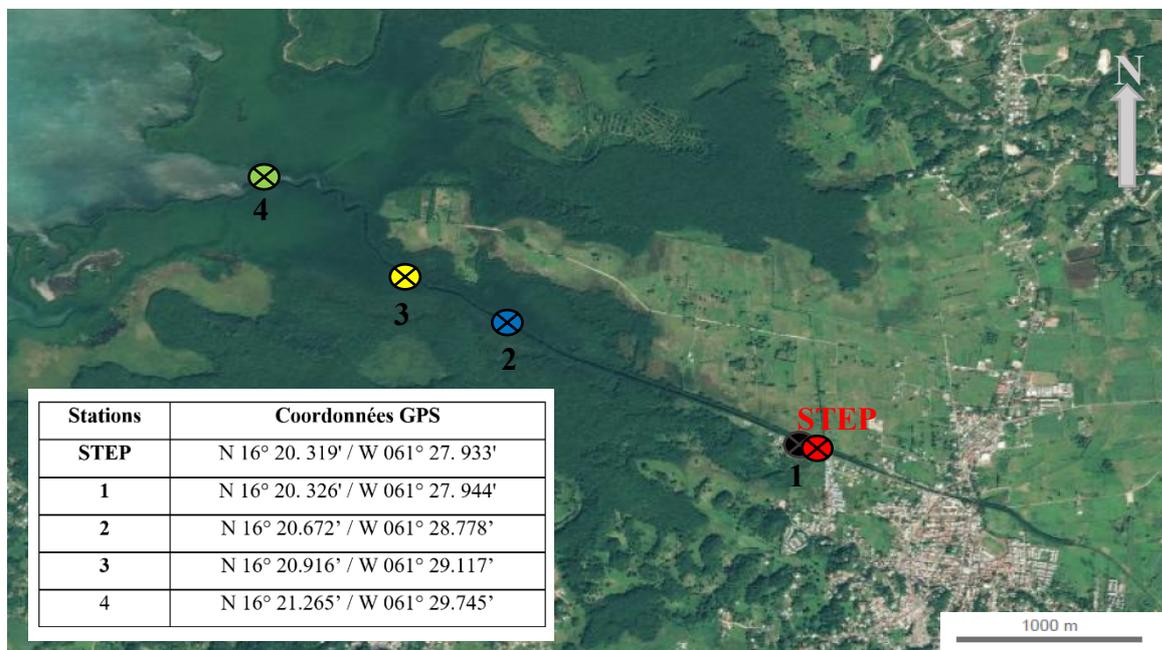


Figure 19 : Localisation des sites de prélèvements, Canal des Rotours, Guadeloupe (Géoportail)

Les carottes et les sédiments de surface ont été transportés au laboratoire à température ambiante ($\sim 30^{\circ}\text{C}$) dans l'heure suivant le prélèvement.

Les eaux porales ont été recueillies à l'aide d'échantillonneurs de solution de sol de type Rhizon® (Rhizosphere Research, Wageningen, Pays-Bas). Ces collecteurs sont constitués par une membrane de microfiltration en fibre de verre de 5 cm de longueur et de porosité 0.12-0.18 μm reliée à un tube de 13 cm en PE/PVC. Afin de récupérer les eaux porales, le ruban adhésif est percé et les rhizons sont insérés verticalement dans les trous de la carotte. Les rhizons sont alors connectés à une seringue de 10 ml comme présenté dans la Figure 20.

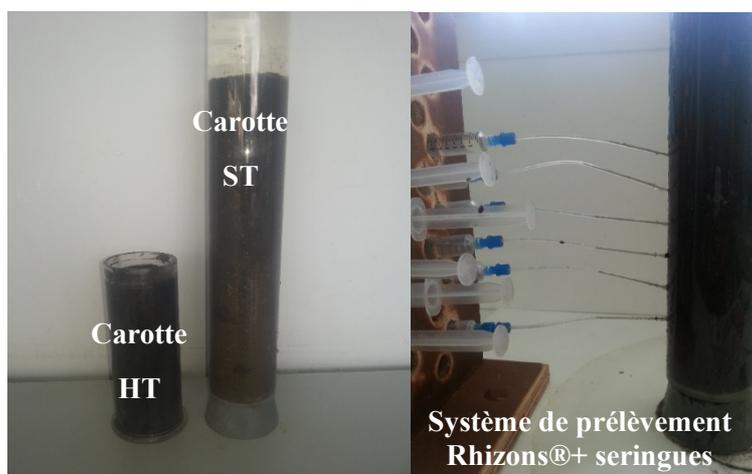


Figure 20 : Photographie d'une carotte prélevée dans les sédiments hors tapis microbien (HT) et d'une carotte prélevée dans les sédiments sous tapis microbien (ST). Photographie de prélèvements d'eaux porales grâce au système de Rhizon®

Les eaux porales ont été transférées dans des tubes à hémolyse de 5 ml stériles (VWR). Pour éviter l'oxydation du H_2S par l' O_2 , une partie des échantillons a été analysée directement après l'échantillonnage. A l'autre partie de ces échantillons, de l'acétate de zinc 10% a été ajouté pour faire précipiter les sulfures (0,25 ml d'acétate de zinc pour 1 ml d'échantillon). Ces ajouts ont été réalisés pour éliminer les interactions entre les réactifs utilisés pour le dosage des NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ et le H_2S présent dans les eaux porales évitant ainsi une sous-estimation des quantités réelles dosées (Hoor 1974; Schnetger et Lehnert 2014). Suite à cette précipitation, les échantillons ont été filtrés à 0,22 μm à l'aide d'un filtre Millipore Durapore™ puis placés au congélateur à -20°C avant analyse.

Pour les analyses nécessitant un plus grand volume d'eau porale, plusieurs carottes ont été prélevées. Pour une profondeur choisie les sédiments ont été rassemblés et homogénéisés sur site. Après avoir été transportés au laboratoire, les sédiments ont été placés dans des tubes de

50 ml (Falcon® centrifuge tube). L'eau porale a été récupérée par centrifugation à 1187 g pendant 5 minutes et filtrée (0.2 µm) avant d'être stockée à -20°C.

Après extraction de l'eau porale, les sédiments ont été récupérés, séchés à 37°C pendant une semaine et broyés dans un broyeur à bille durant 1 à 2 minutes à une fréquence de 20 Hz (Vibro-broyeur Retsch MM 200). Les sédiments ont été placés dans des tubes à hémolyse et conservés à température ambiante avant analyse ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ et C/N). L'ensemble des traitements subis par les échantillons sont présentés ci-dessous.

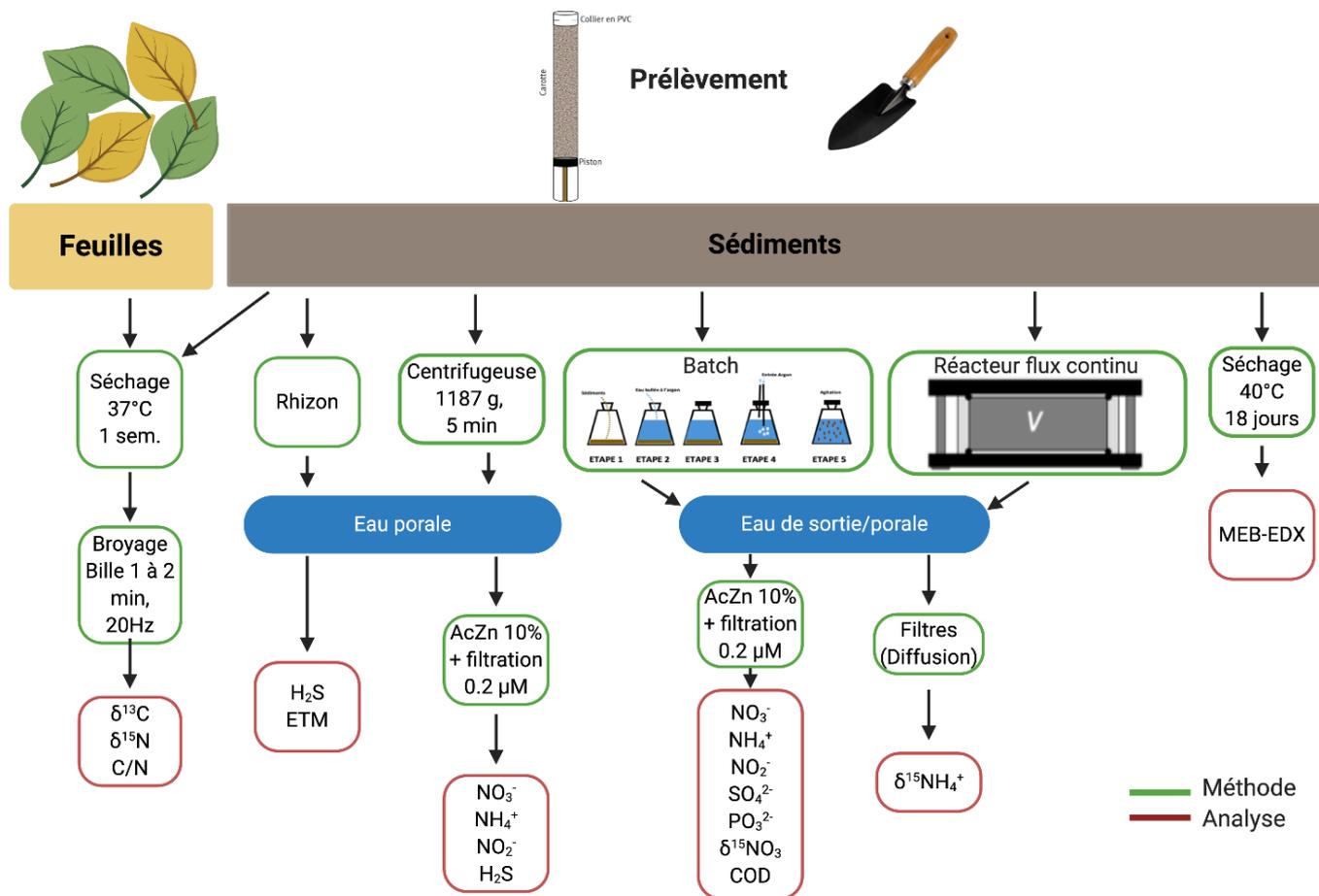


Figure 21 : Traitements des échantillons- Protocole pour l'analyse des feuilles, des sédiments et de l'eau porale

2.1.2 Tapis microbien

Pour être utilisé dans certaines expérimentations, le tapis microbien a fait l'objet d'un tri grossier afin de récupérer le maximum de filaments de *Beggiatoacea*. Pour ce faire, le tapis a été récupéré sur le terrain à l'aide d'une seringue de 50 ml. L'utilisation d'une seringue a permis de récupérer le tapis à la surface de sédiment en minimisant la prise de sédiment. L'ensemble du contenu des seringues a été placé dans une bouteille afin d'être transporté en bateau à

température ambiante vers le laboratoire. De retour au laboratoire le mélange eau de mer/tapis/sédiments a été placé dans des cristallisoirs (Figure 22). Après quelques heures de repos, les filaments de *Beggiatoaceae* remontent à la surface du sédiment et ils peuvent être récupérés à l'aide d'un crochet. Une fois le tri réalisé, le tapis microbien est aliquoté et congelé avant d'être analysé ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ et C/N).

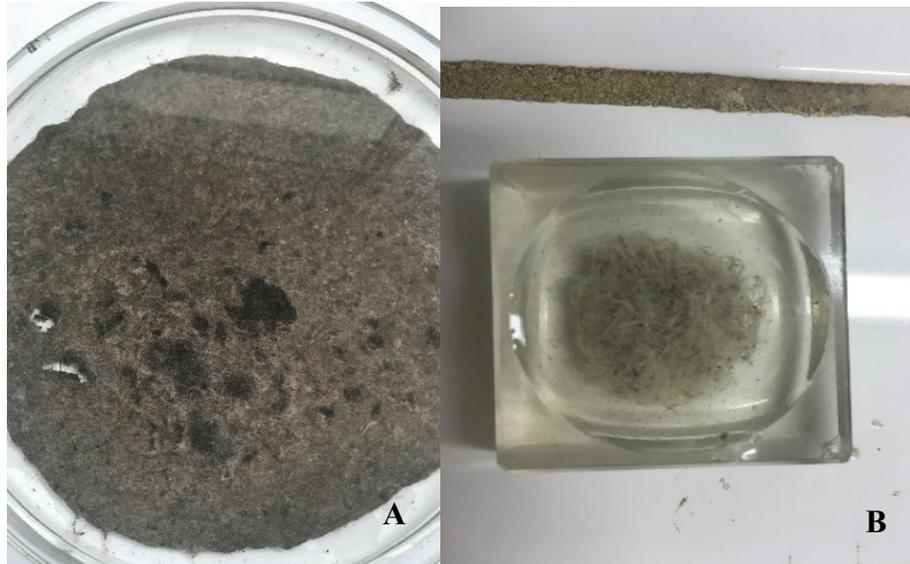


Figure 22 : Décantation du tapis non trié et remontée des filaments de *Beggiatoaceae* (A). Tri grossier des filaments de *Beggiatoaceae* (B).

2.1.3 Feuilles de palétuviers

Des feuilles de palétuvier rouge, *Rhizophora mangle*, ont été récupérées sur site, séchées à 37°C durant une semaine et broyées avant utilisation comme source de carbone disponible pour les micro-organismes. Deux types de feuilles ont directement été prélevés sur les arbres : les feuilles vertes et les feuilles jaunes sénescents.

2.1.4 Préparation des échantillons pour les analyses isotopiques ($\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$)

Pour l'analyse du $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$, les eaux interstitielles prélevées sur les sites d'études n'ont pas pu être directement analysées à cause de la formation d'un précipité. Les eaux ont donc été analysées selon la méthode de la diffusion qui nécessite une phase de préparation de l'échantillons (Sebilo *et al.* 2004). Cette méthode est basée sur la conversion de 50 à 150 μg de NH_4^+ en NH_3 en milieu basique (NaOH 5N). L'ammoniac produit va être piégé sur un filtre de verre (APFD, 25mm, Millipore) imprégné d'acide sulfurique concentré (8N) entouré d'un filtre hydrophobe ('Mitex', PTFE, 47mm diamètre, Millipore) sous forme de sulfate d'ammonium.

Le protocole de préparation du filtre est présenté dans la Figure 23. Cette réaction de volatilisation va engendrer un fractionnement isotopique significatif favorisant l'isotope léger dans le NH_3 produit. Il sera alors possible de quantifier cet isotope ^{14}N . Après incubation, les filtres ont été rincés abondamment avec de l'eau MilliQ et congelés à -20°C dans des flacons sertis avant d'être envoyés à froid à l'équipe IEES de l'université Pierre et Marie Curie pour l'analyse isotopique.

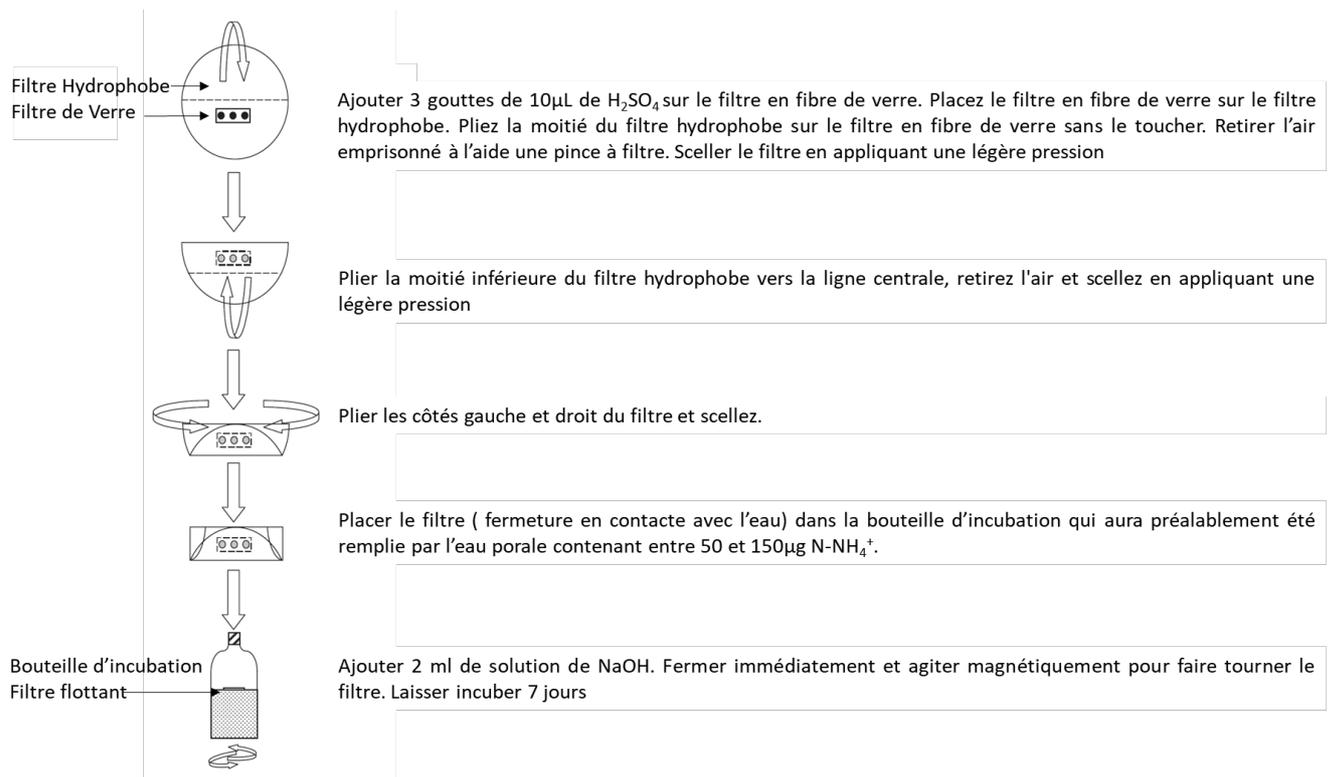


Figure 23 : Protocole de préparation des filtres pour la méthode de la diffusion de l'ammonium (Sebilo *et al.* 2004)

2.2 Profils de concentration des éléments NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , SO_4^{2-} , O_2 et H_2S .

Pour la réalisation des profils de concentration de NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , SO_4^{2-} , O_2 et H_2S dans l'eau interstitielle, 4 carottes par type de sédiment (ST et HT) ont été prélevées. Les carottes ont été transportées au laboratoire et l'eau interstitielle a été recueillie tous les 2 centimètres à l'aide des Rhizon®.

2.3 Mesure des flux

Afin de suivre l'évolution des concentrations de NH_4^+ de la colonne d'eau déterminer et ainsi mesurer les flux entre le sédiment et la colonne d'eau, 2 carottes ST et deux HT ont été

prélevées. Les carottes contenant environ 20 cm de sédiments non remaniés et 13 cm d'eau surnageante prises sur site ont été incubées durant 24h. Pour créer un mouvement d'eau au sein la colonne d'eau des carottes et éviter l'anoxie, un léger jet d'air a été insufflé à la surface de l'eau à l'aide d'un cône relié à une pompe à air permettant à l'eau de circuler. L'eau sus-jacente a été prélevée à 0, 8 et 24h et analysée pour déterminer les concentrations en NH_4^+ . Environ 5 ml d'eau ont été prélevés à chaque pas de temps. Cette eau a été filtrée sur filtre de porosité $0,22 \mu\text{m}$ (Millipore Durapore™) et conservé à -20°C avant d'être analysée. Les flux benthiques de ces composés ont été calculés à partir des pentes des courbes de régression linéaire établies en fonction de l'évolution des concentrations des éléments analysés en fonction du temps. Ces flux ont été ramenés par unité de surface ($\mu\text{M}\cdot\text{cm}^{-1}$).

2.4 Mesure des taux de production et d'élimination des éléments étudiés

2.4.1 Réacteurs à flux continu

L'utilisation des réacteurs à flux continus permettent d'évaluer les taux réactionnels des processus en conditions contrôlées sur des sédiments non remaniés. Cet outil permet donc d'obtenir des valeurs de taux de consommation et de production d'espèces chimiques représentatives des conditions *in situ* (Laverman *et al.* 2006; Pallud et Van Cappellen 2006; Pallud *et al.* 2007; Laverman *et al.* 2007) .

Les sédiments de surface (0-2cm de profondeur) qui ont été prélevés sur le terrain sont directement placés dans les réacteurs dès l'arrivée au laboratoire. Comme présenté dans la Figure 24, les réacteurs utilisés dans cette thèse sont composés par un anneau Plexiglas® de 1 cm de hauteur dans lequel on place les sédiments. Cet anneau est placé entre deux capuchons préalablement recouvertes d'un filtre de verre (1,2 mm d'épaisseur, 42 mm de diamètre) et d'un filtre Millipore Durapore™ d'une porosité de $0,22 \mu\text{m}$. Afin d'assurer l'étanchéité du système, des joints toriques sont installés entre l'anneau et les capuchons. Enfin, quatre vis placées au niveau des capuchons permettent de fermer le système. Ces capuchons support possèdent un canal qui permettra de faire rentrer ou sortir la solution nourrice en fonction de leur position (capuchon du bas entrée/capuchon du haut sortie). Pour assurer un écoulement radialement homogène, ces canaux d'entrée et de sortie sont ouverts au centre des capuchons, et sont en contact direct avec les filtres.

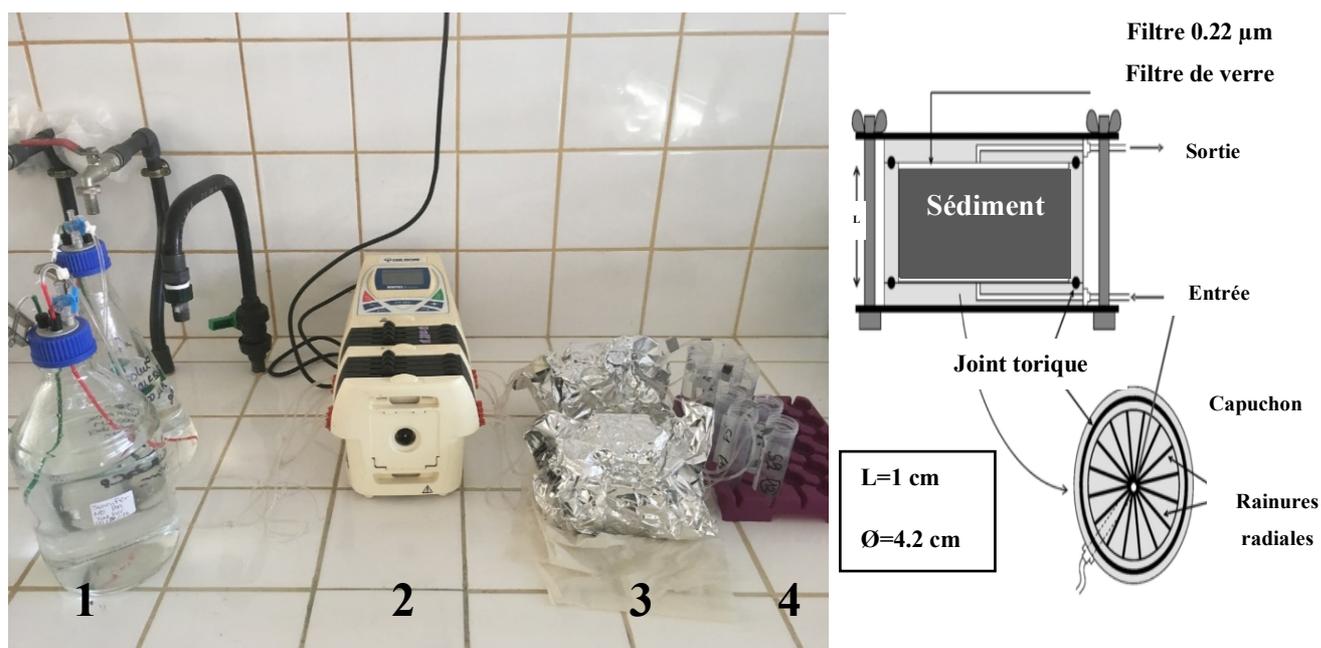


Figure 24 : Montage des réacteurs à flux continu (gauche): (1) Solution nourrice, (2) Pompe péristaltique, (3) Réacteurs emballés dans de l'aluminium, (4) Tubes récepteurs en sortie de réacteur. Schéma d'une coupe transversale d'un réacteur à flux continu et vue du haut d'un capuchon (droite) (Pallud *et al.* 2007)

Afin de garantir que le seul accepteur d'électron terminal présent dans les solutions nourrices soit celui introduit, les solutions nourrices n'ont pas été faites à partir d'eau de mer artificielle mais composées à partir d'eau MilliQ contenant 33 g/L de NaCl pour reproduire la salinité sur site. En fonction des problématiques abordées, ces solutions ont été composées de KNO_3 , K^{15}NO_3 ou de Na_2SO_4 . Les solutions nourrices ont été placées dans des flacons en verre Schott Duran® fermées hermétiquement. Afin d'éliminer toute trace d'oxygène, et ainsi garantir que l'élément constituant la solution soit le seul accepteur d'électron fourni au sédiment, les solutions ont été purgées vigoureusement avec de l'argon pendant au moins 10 minutes. La concentration en oxygène a été contrôlée avec un appareil de mesure à fibre optique (fibox3-Presens) afin de s'assurer des conditions d'anoxie. Cette dernière a atteint la valeur $5,9 \pm 0,03 \mu\text{M}$.

Pour faire circuler la solution nourrice dans les réacteurs, le dispositif est relié à une pompe péristaltique (ISMATEC Reglo numérique, modèle ISM834/ Gilson® modèle Minipuls® 3) qui garantit un débit continu tout au long de l'expérience. Les débits précis ont été calculés par pesée des tubes en sortie de réacteur. Avant la mise en route de l'expérience, les réacteurs ont été enveloppés avec du papier d'aluminium afin d'inhiber les processus photosensibles comme la production d'oxygène par photosynthèse. Les expériences ont été réalisées à température ambiante soit entre 25 et 30° C. Avant de collecter les échantillons pour analyse, le système

doit atteindre un état d'équilibre ou « steady-state ». Cet état d'équilibre correspond au maintien de la composition de la solution nourrice et du débit imposé jusqu'à stabilisation de la composition de la solution de sortie. Pour ce faire, les sédiments ont été soumis à un flux de solution nourrice pendant 11 à 13h. Après atteinte de l'état d'équilibre, les solutions de sortie de réacteur ont été collectées à intervalles fixes (toutes les 2h pour les expériences avec le sulfate ou 4 h pour les expériences avec le nitrate) pendant 2 jours maximum. Après avoir été filtrés (0.2 µm) et conditionnés dans des tubes de 5 et 15 ml, les échantillons ont été conservés à -20 °C avant d'être analysés. Les solutions nourrices ont elles aussi été échantillonnées pour chaque expérience (n=3) et congelées avant d'être analysées.

L'utilisation de réacteurs à flux continu permet de choisir la concentration du substrat fournis par le réacteur au sédiment. En connaissant le débit qui est maintenu le long de l'expérience et en déterminant les concentrations des éléments produits ou consommés en sortie de réacteur, il est facile de déterminer les taux de production et de réductions des dits éléments.

Les taux de production et de consommation des solutés peuvent être calculés à partir de l'équation suivante :

$$R = \frac{(C_0 - C_{\text{sortie}}) * Q}{V}$$

Equation 7 : Calcul du taux de réduction et du taux de production par la méthode des réacteurs à flux continu

Où C_0 est la concentration initiale du composé dans la solution nourrice, C_{sortie} est la concentration du composé dans la solution de sortie (C en nmol.cm^{-3}), Q le débit de la solution à travers le réacteur en $\text{cm}^3.\text{h}^{-1}$ et V le volume de sédiment contenu dans le réacteur qui est de $13,85 \text{ cm}^3$. Ainsi les taux de consommation et de production obtenus à l'état d'équilibre seront exprimés en $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$. Afin de relier les taux réactionnels à l'équilibre (

Equation 7) avec la concentration de l'accepteur d'électron terminal dissout, il est nécessaire d'estimer la concentration moyenne de ce dernier dans le réacteur. Pour ce faire, il faut déterminer le gradient de concentration au sein du réacteur. Les réactions étudiées sont des réactions enzymatiques où le substrat (NO_3^-) est en large excès, l'évolution des taux de réduction du nitrate va donc suivre la cinétique de Michaelis-Menten. Les taux réactionnels et les concentrations en substrats et produits peuvent alors être associés à une équation de taux en utilisant l'expression de Michaelis-Menten (Equation 8) où R est le taux de réduction de

l'accepteur d'électrons terminal, R^{EA}_{max} est le taux de réaction maximal, K^{EA}_m est la concentration de demie-saturation de l'accepteur d'électrons terminal encore appelée constante d'affinité et C est la concentration moyenne estimée (à l'équilibre) de l'accepteur d'électron (Pallud *et al.* 2007). On pourra ainsi déterminer le taux de réaction du milieu pour une concentration donnée avec la formule suivante :

$$R = \frac{R^{EA}_{max} * C}{(K^{EA}_m + C)}$$

Equation 8 : Expression de l'évaluation des taux de réduction selon l'expression de Michaelis-Menten

Les valeurs optimisées de K^{EA}_m et de R^{EA}_{max} ont été obtenues par la méthode dérivative de Newton-Raphson réalisée par Excel solver ®. Par cette méthode, une valeur de R^{EA}_{max} est estimée en fixant une valeur arbitraire à K^{EA}_m . Une fois ces deux paramètres fixés, on peut définir à partir des concentrations *in situ* de l'accepteur d'électron les taux de réduction et de production propres à un milieu donné.

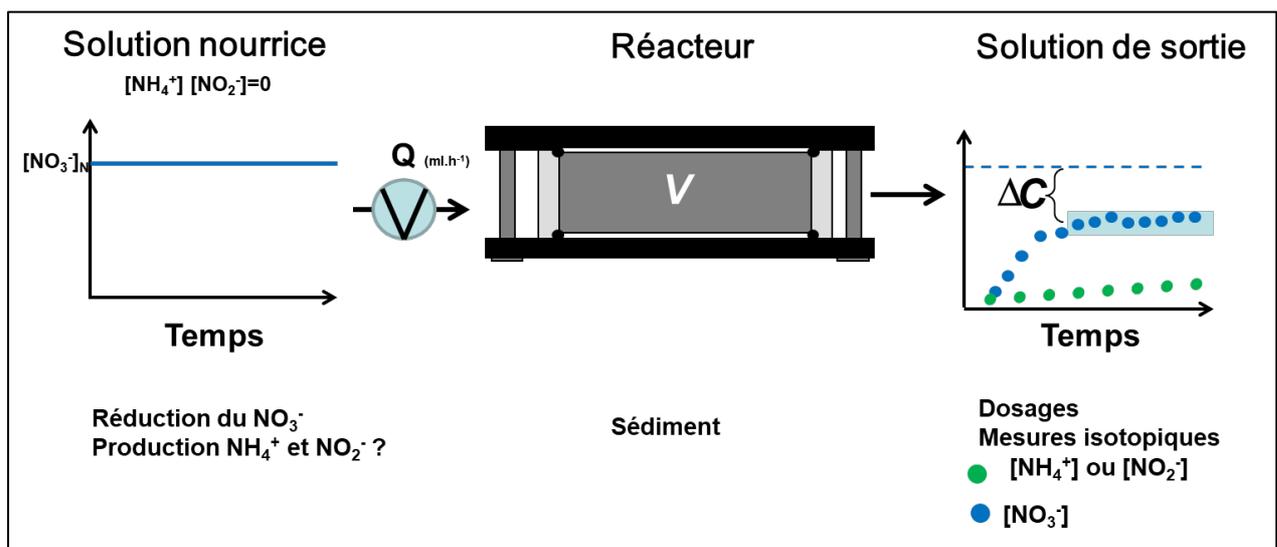


Figure 25 : Dispositif expérimental de réacteur à flux continu pour la détermination des taux de réduction du nitrate. basé sur (Mothet *et al.* 2013). Le réacteur contient un volume connu de sédiment ($V=13,85 \text{ cm}^3$). Il est alimenté en continu avec une solution nourrice anoxique qui contient une concentration en nitrate constante $[NO_3^-]_N$ par une solution anoxique de nitrate de concentration connue, à un débit constant (Q). Les solutions de sortie sont collectées et analysées pour les concentrations en nitrate et les potentiels métabolites produits. Le taux de réduction de nitrate dans le réacteur est obtenu en mesurant la différence entre les concentrations de la solution nourrice et la solution de sortie (ΔC) une fois que le débit et les concentrations de nitrate sont stabilisées (atteinte de l'état d'équilibre « steady-state »).

2.4.1.1 Mesure de la réduction du nitrate : DNRA, dénitrification et influence du tapis microbien

Dans le but de mesurer l'influence du tapis microbien sur les taux de réduction potentiels de nitrate et d'estimer la part de la DNRA et de la dénitrification, les sédiments de mangrove ont été placés dans des réacteurs qui ont été soumis grâce à une pompe péristaltique ($Q \sim 3 \text{ ml.h}^{-1}$) à des solutions nourrices contenant du nitrate de potassium marqué ou non à différentes concentrations (Tableau 7). Pour les réacteurs qui ont fait l'objet d'un ajout de tapis microbien aliquoté, environ 11 g de sédiment ont été introduit et 3ml de tapis microbien ont été ajoutés à leur surface soit environ 3g de mélange eau tapis microbien. Les incubations ont été réalisées en double pour chaque traitement et sur 35h.

Comme présenté dans le tableau ci-dessus. Les taux de réduction des nitrates et de production des produits réactionnels ont été calculés à partir du dosage des sorties de réacteurs. La méthode d'inhibition de l'enzyme oxyde nitreux réductase par l'acétylène a été utilisée pour déterminer les taux de dénitrification. L'étude du fractionnement isotopique associé à la DNRA a quant à elle été réalisée à partir de l'expérience du suivi de la production de $^{15}\text{N-NH}_4^+$ suite à l'ajout de K^{15}NO_3 ni aux réacteurs contenant les sédiments recouverts de tapis microbien (expérience de juillet 2017).

Tableau 7 : Récapitulatif des traitements appliqués dans le cadre des expériences en réacteurs à flux continu et des analyses réalisées sur les différentes matrices

Matrices incubées	Dates	[NO ₃] solutions nourrices (μM) (¹⁵ NO ₃ ⁻)				Analyses						
		100	200	500	5000	Sédiments et/ou tapis microbien %N, %C, C/N, δ ¹⁵ N, δ ¹³ C	Eau de sortie de réacteur					
							[NO ₃] _r	[NO ₂] _p	[NH ₄ ⁺] _p	[SO ₄ ²⁻] _p	[N ₂ O] _p	δ ¹⁵ N-NH ₄ ⁺
Sédiments HT	07/07/2017			X	X		X		X			
Sédiments ST				X	X		X					
Sédiments ST+Tapis	14/06/2017	X	X	X	X	X	X				X	
	12/07/2017	X*	X*	X*	X*	X	X				X	X
Sédiments ST	20/09/2017	X	X	X	X	X	X			X		

2.4.1.2 Mesure de la sulfato-réduction

Pour ces expériences en réacteur, deux réacteurs ont été préparés pour chaque condition expérimentale (sous tapis et hors tapis) et les solutions de sortie ont été échantillonnées toutes les 2h. Les sédiments ont été soumis à une solution nourrice de sulfate à 2,9 mM préparée à partir d'eau MilliQ à 33‰ en NaCl. Les tubes receveurs ont été remplis avec 1,5 ml de solution

d'acétate de zinc à 10 % afin de faire précipiter les sulfures formés et ainsi éviter la prise en compte des sulfates produits par leur oxydation dans le bilan des sulfates présents en sortie de réacteur. Le débit moyen mesuré de la pompe était de 2,7 ml.h⁻¹. Les solutions nourrices et les sorties de réacteur ont été analysées pour SO₄²⁻. Afin de calculer les taux de réduction de sulfate, l'évolution des concentrations en sulfate a été suivie au cours du temps dans les eaux de sortie de réacteur et aucune source de carbone externe n'a été ajoutée pour essayer de simuler la réponse du sédiment seul à l'apport de sulfate.

2.4.1.3 Réduction du nitrate et influence du débit, de la quantité de carbone et du couvert végétal

Afin d'évaluer l'influence des variations spatiales le long du canal (de la station d'épuration à l'embouchure de la mangrove), des concentrations de nitrate, du débit et de la source de carbone sur les taux potentiels de réduction du nitrate par les sédiments de mangrove le long du canal, quatre sites ont été sélectionnés pour effectuer les prélèvements. Le choix de ces sites s'est fait en fonction de leur position vis-à-vis de la sortie de STEP et de la densité de la mangrove. Le site 1 est situé dans une zone habitée, tandis que les sites 2, 3 et 4 sont composés de mangrove de plus en plus dense en allant vers l'embouchure (type de végétation et couvert végétale différent). La ci-dessous présente les points de prélèvement et leurs coordonnées GPS.

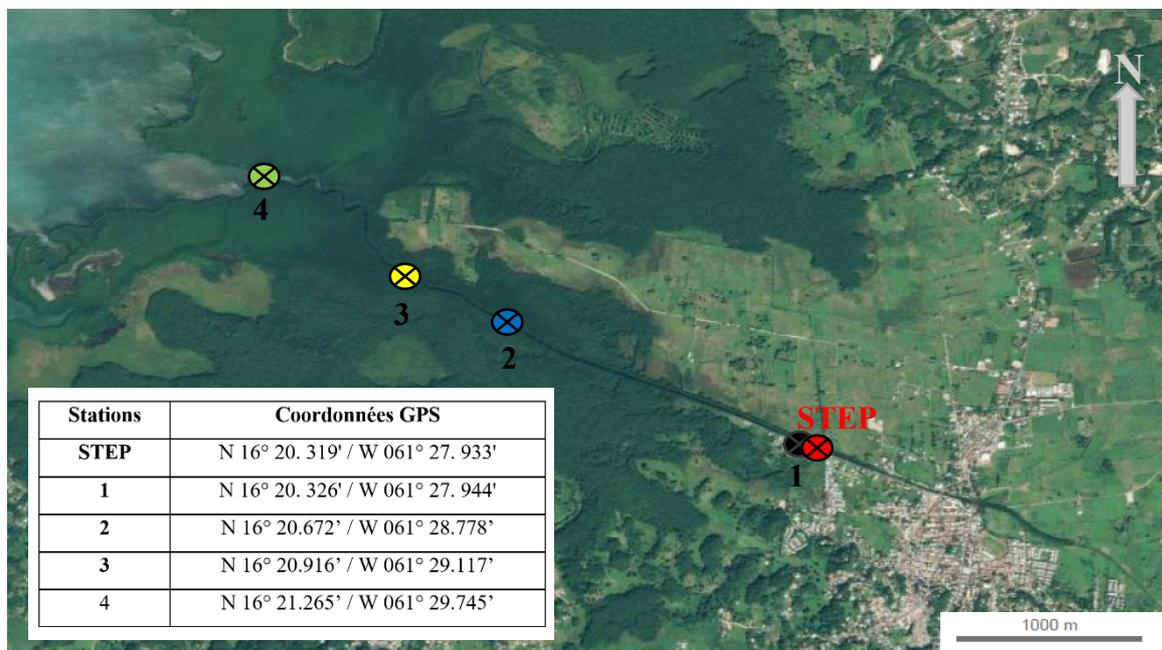


Figure 26 : Localisation des sites de prélèvements, Canal des Rotours, Guadeloupe (*Géoportail*)

Trois échantillons de la colonne d'eau ont été prélevés en amont et en aval de l'usine pour l'analyse des éléments traces et métaux lourds (arsenic, cadmium, cuivre, manganèse, plomb et zinc). Pour chaque station, un prélèvement de la colonne d'eau a été réalisé pour le dosage des nutriments (NO_3^- , NO_2^- et NH_4^+).

Deux réacteurs (duplicats) ont été préparés pour chaque condition expérimentale (Tableau 8). Toutes les 4h et ce pendant 48h, les sorties de réacteurs ont été prélevées et stockées à -20°C pour analyse.

Pour essayer de simuler la réponse du sédiment seul aux différentes concentrations de nitrate fournies (0,62 à 6 mM à un débit de $3 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$) et évaluer l'influence des variations spatiales le long du canal aucune source de C externe n'a été ajoutée (septembre, octobre, novembre 2016).

En octobre 2017, l'effet de 3 différentes sources de carbone a été étudié sur les taux potentiels de réduction du nitrate au niveau de la station 3. Pour évaluer l'effet de l'ajout de carbone sur la réduction des nitrates par les sédiments de mangrove, les ajouts de carbone se sont faits soit sous forme de feuilles palétuvier, représentatifs de la source de carbone présente dans les sédiments soit sous forme d'acide organique facilement dégradable au travers de l'ajout d'acétate à 2mM dans la solution nourrice. Les sédiments sans ajout et les sédiments mélangés (i.e. ajout de feuilles de palétuvier vertes ou jaunes broyées) ont été placés dans les réacteurs. Deux réacteurs par traitement ont été mis en place soit un total de 8 réacteurs : 4, contenant un mélange volumétrique sédiments : feuilles jaunes ou vertes avec un ratio de 2,5 :1 et 4 réacteurs contenant les sédiments seuls dont deux qui ont fait l'objet de l'ajout d'acide organique labile via la solution nourrice (Tableau 8). Une solution nourrice de 6mM en nitrate a été fournie à un débit d'environ $3 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$ à tous les réacteurs pendant 4 jours.

En août 2017, l'influence du débit sur les taux potentiels de réduction du nitrate a été étudiée au niveau de la station 3. Une solution nourrice de 6mM de nitrate a été fournie aux réacteurs. Pour permettre le changement de l'eau porale au sein des réacteurs et l'atteinte de l'état d'équilibre, tous les réacteurs ont été soumis dans un premier temps à un débit de $3 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$ durant environ 12h. Les débits ont ensuite été changés pour une des valeurs suivantes : 0.5 (n=2), 1.5 (n=2), 3 (n=4), 6 (2 n=2) ou $11 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$ (n=2).

Afin de calculer les taux potentiels de réduction du nitrate et de production des produits de réduction, l'évolution des concentrations NO_3^- , NO_2^- et NH_4^+ ont été suivies au cours du temps dans les eaux de sortie de réacteur.

La porosité volumique a été estimée après prélèvement de 5 cm³ de sédiment de chaque station (duplicats) et un sous-échantillon de sédiment de chaque série de prélèvement (30 grammes) a été séché à et broyé pour analyse. Les teneurs en C et en N ont été analysées pour les sédiments seuls, le mélange feuilles vertes ou jaunes/sédiments et pour les deux types de feuilles. Les $\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$ ont été mesurés pour les sous échantillons de sédiments préalablement décarbonatés et les mélanges feuilles/sédiments qui a été réalisé dans certains réacteurs.

Tableau 8: Récapitulatif des conditions appliquées aux réacteurs à flux continu pour la détermination de l'influence des concentrations en nitrate, du débit et de la source de carbone sur les taux potentiels de réduction du nitrate

Expériences	Date	Station	Réacteurs					Analyses			
			Traitements			Nb réacteurs	Durée	Eau			Sédiment
			Q _{moyen} (ml.h ⁻¹)	[NO ₃] (mM)	Source de C			[NO ₃], [NO ₂], [NH ₄ ⁺]	ETM	COD	
[NO ₃]	Sep 2016	1	2.9	0.6-1.4-3.0-6.0	-	8	48 h	X		X	X
	Sep 2016	2	2.7	0.7-1.5-3.2-5.9	-	8		X		X	X
	Nov 2016	3	2.7	0.7-1.6-3.0-6.0	-	8		X		X	X
	Déc 2016	4	2.9	0.7-1.9-3.1-6.0	-	8		X		X	X
Ajout de C	Oct 2017	3	2.7	6.2	-	2	102 h	X			
			2.8	6.3	Feuilles	2		X			
			2.5	6.3	jaunes	2		X			
			2.8	6.2	Feuilles vertes	2		X			
					Acétate 2mM						
Débits	Août 2017	3	0.5	6.1	-	2	48 h	X			
			1.2	5.9	-	2		X			
			2.7	6.2/6.3	-	4		X			
			6.2	5.9	-	2		X			
			9.8	6.3	-	2		X			
Eau de la colonne		Amont STEP						X	X		
		Aval STEP						X	X		
		1						X			
		2						X			
		3						X			
		4						X			

Pour vérifier la significativité des résultats et déterminer les différences entre les échantillons d'un groupe. L'analyse statique a été réalisée sur Sigmaplot (Systat Software Inc., USA) et basée sur le test non paramétrique Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) selon la méthode de Dunn.

2.4.2 Batch : mesure de la minéralisation

En l'absence de méthodes spécifiques pour déterminer la minéralisation de la matière organique azotée, la production d'ammonium couplée à l'étude de la composition isotopique de l'azote comme traceur du processus a été utilisée pour caractériser et mesurer les taux de minéralisation de l'azote organique (Herbert 1999). Cette méthode est largement utilisée pour tracer son cycle biogéochimique dans les milieux marins (Lehmann *et al.* 2002).

Deux types d'incubations ont été mises en place afin de déterminer les taux de minéralisation de la matière organique. La première méthode employée que l'on appellera « batch boue » (Figure 27) a consisté à placer 10 g de sédiments humides dans des flacons à sertir de 120 ml et à remplir ces derniers avec de l'eau prélevée sur site qui a préalablement été bullée à l'argon pendant 10 minutes. Afin de garantir l'anaérobie, l'air a été évacué à l'aide d'une aiguille. Les flacons ont ensuite été agités à température ambiante (25°C) afin de mettre les sédiments en suspension comme présenté dans la figure. Aux temps $t=0-18-24-48$ et 72h les flacons ont été sacrifiés et l'eau surnageant a été récupérée puis filtrée à $0,22\ \mu\text{m}$ à l'aide d'un filtre Millipore Durapore™ et congelée à -20°C avant d'être analysés.

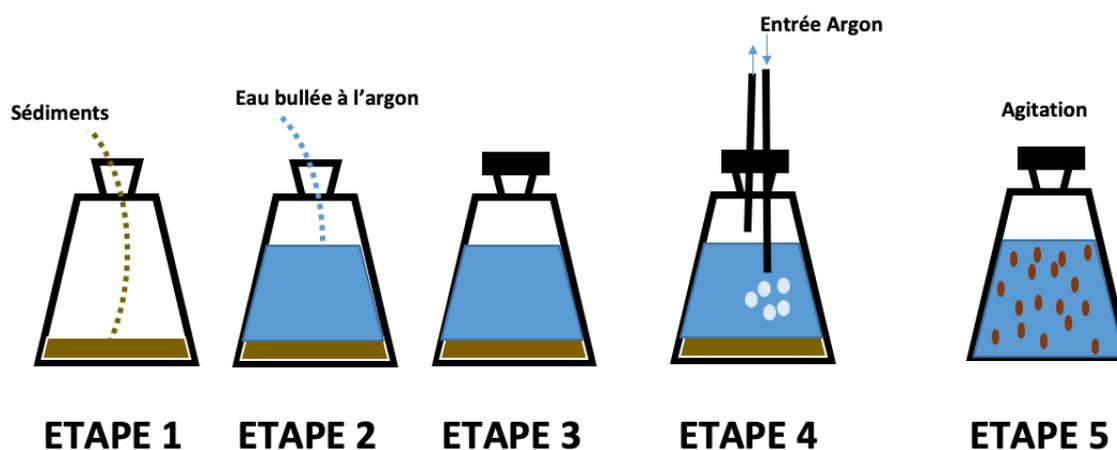


Figure 27 : Etapes de la mise en place de l'expérience en batch pour les boues

Dans un second temps il a été nécessaire de produire une quantité d'ammonium suffisante afin de pouvoir suivre l'évolution du $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ au cours de l'expérience d'incubation. Pour ce faire, les taux de minéralisation de la matière organique en anaérobie associés ont été déterminés selon la méthode présentée par (Kristensen *et al.* 2000) que l'on appellera « batch sédiment ». Les sédiments ont été placés dans des flacons à sertir de 120 ml. Pour éviter l'intrusion d'oxygène, les flacons ont été remplis à ras bord soit environ 150 g de sédiment et

scellé immédiatement avec un bouchon à sertir composé d'un septum en caoutchouc recouvert d'une capsule en aluminium. Pour prévenir la réaction de photosynthèse, les flacons ont ensuite été incubés à l'obscurité et à température ambiante (25°C) pendant 25 jours. Des flacons ont été sacrifiés aux jours j11 et j17. Après incubation, l'eau a été extraite par centrifugation comme décrit dans la partie précédente. Pour chaque incubation, les échantillons d'eau ont été mélangés et homogénéisés, ils ont ensuite été filtrés à 0,22 µm à l'aide d'un filtre Millipore Durapore™ et congelés à -20°C avant d'être analysés.

En vue de caractériser ces taux de minéralisation par la méthode « batch boue », 12 carottes de sédiments ont été échantillonnées. Afin d'avoir suffisamment de sédiment pour permettre l'incubation, les contenus des carottes ont été mélangés et homogénéisés aux profondeurs étudiées soit entre 0 et 4 cm et entre 12 et 16 cm. Les incubations ont été réalisées en trois exemplaires pour chaque type de sédiment et l'évolution des concentrations en ammonium et en phosphate ont été suivies au cours du temps.

Afin de suivre la composition isotopique $\delta^{15}\text{N-NH}_4$ associée au processus de minéralisation de l'ammonium en anaérobie 24 carottes ont été échantillonnées lors de la même campagne. Pour les carottes prélevées au niveau des sédiments ST et HT, seuls les sédiments des profondeurs comprises entre 0-6 cm et 12-18 cm ont été incubés selon le protocole de « batch sédiment ».

En fin d'incubation, l'eau interstitielle a été extraite des sédiments par centrifugation (1200 g pendant 5 minutes) et analysée pour NH_4^+ , PO_4^{3-} et $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$. Les sédiments ont quant à eux été séchés et broyés pour mesurer les contenus en azote, en carbone et l'analyse des isotopes stables $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$.

La détermination du $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ de l'eau porale avant incubation a été réalisée à partir de 20 carottes de sédiment avec et sans tapis ont été collectées (10 par site). Pour chaque site, les échantillons ont été regroupés et homogénéisés aux profondeurs de 0-6 cm et 12-18cm. L'eau interstitielle a été extraite par centrifugation (1200 g pendant 5 minutes). Après détermination des teneurs en NH_4^+ , la méthode de « la diffusion de l'ammonium » a été appliquée pour la mesure du $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$

Les taux de minéralisation de l'azote ont été déterminés à partir de la courbe régression linéaire obtenue grâce à l'évolution des concentrations en ammonium au cours du temps. La pente de cette courbe donne le taux de minéralisation de l'azote entre $t=0$ et $t=25$ jours. A noter que pour chaque cas étudié, un échantillon de sédiment a été conservé, séché et broyé selon les conditions décrites dans la figure en page 77.

2.5 Analyses physiques et chimiques

2.5.1 Microscopie électronique à balayage, analyse par dispersion des rayons X (MEB-EDX)

Cette méthode de spectrométrie à dispersion d'énergie (EDX) couplée au MEB permet d'avoir une microanalyse chimique élémentaire des sédiments de mangrove. L'analyse du rayonnement émis par les sédiments qui ont été placés sous le faisceau d'électrons du MEB est retranscrit sous forme de spectre où les pics d'intensité variable sont caractéristiques des éléments minéraux ou métalliques. Cette analyse quantitative se fait par comparaison des intensités obtenues avec celles de standards.

Les échantillons nécessitant une analyse EDX ont été séchés à l'étuve à 40°C pendant 18 jours puis placés dans un bocal hermétique contenant du gel de silice « silica-gel » afin de protéger les échantillons de l'humidité. L'analyse a été effectuée grâce à un microscope Quanta 205 (FEI) couplée à un détecteur EDX M-max50-mm² (Oxford).

2.5.2 Porosité

Pour déterminer la porosité des sédiments de mangrove, un volume de 10 ml de sédiment a été prélevé à l'aide d'une seringue et pesé. L'échantillon de sédiment humide a ensuite été séché à l'étuve pendant une semaine à 70°C et le poids sec a été déterminé par pesée. La porosité a été calculée par volume selon l'Equation 9 où P est le poids sec de sédiment (g), V est le volume de sédiment prélevé (ml) et d la densité du sédiment

$$\text{Porosité} = 1 - (P_{\text{sec}}/V)/d_{\text{sédiment}}$$

Equation 9 : Expression de la porosité

2.5.3 Teneur en Corg N org CN

Après avoir été séchés et broyés, les sédiments et les feuilles ont fait l'objet de l'analyse du contenu en azote et en carbone total. Les sédiments de mangrove sont riches en coquilles et donc en carbonates (C_{min}). Une partie des échantillons a été décarbonatée par fumigation d'acide chlorhydrique avant d'être analysés pour le Corg et le δ¹³C (Harris *et al.* 2001). Les teneurs en Corg ont été mesurées grâce à un analyseur élémentaire carbone-azote de type Elementar. Les teneurs en N, C, et les compositions isotopiques des échantillons solides ont été déterminées par le couplage entre un analyseur élémentaire (Vario PYRO cube, Elementar, Hanau, Allemagne) et un spectromètre de masse isotopique à flux continu (IRMS, IsoPrime,

micromass, Manchester, Royaume-Uni) à l'Institut d'Ecologie et d'Environnement de Paris (IEES Paris).

2.5.4 Salinité et pH

La salinité des eaux porales a été mesurée à l'aide d'un réfractomètre manuel Master-S/MilliMATAGO ®. Les valeurs de pH ont été mesurées avec un pH-mètre Mettler Toledo™ FiveEasy Plus™.

2.5.5 Sondes

2.5.5.1 Concentrations en N₂O et O₂

Les mesures d'O₂ et de N₂O ont été réalisées grâce à des micro-sondes spécifiques (Unisence ; Danemark). Pour permettre le déplacement vertical des sondes, ces dernières sont fixées sur un micromanipulateur manuel relié à une potence. Avant utilisation, les sondes sont étalonnées à partir de deux points. Pour la sonde oxygène (Unisence ; Danemark), cet étalonnage est réalisé à partir de deux solutions d'ascorbate et d'hydroxyde de sodium (~2 g d'ascorbate de sodium dans 100 ml de NaOH à 0.1M). Une solution anoxique obtenue après bullage à l'argon pendant 5 minutes et une saturée en oxygène obtenue par bullage à l'air. Pour la sonde N₂O, les deux points de calibration sont réalisés avec de l'eau distillée saturée en N₂O et de l'eau distillée sans N₂O. La présence de sulfure peut interférer avec la méthode d'acétylène (Sorensen *et al.* 1987). Ces interférences potentielles ont été contournées en alimentant les réacteurs avec des concentrations relativement élevées en nitrate néanmoins il existe des interactions complexes entre les voies de transformation du sulfure et de l'azote (Jacinthe et Groffman 2006).

2.5.6 Dosages

Les concentrations en NO₂⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻, H₂S_{dissous} et PO₄³⁻ ont été déterminées par des dosages par étalonnage spectrophotométrique. Ces dosages reposent sur l'utilisation de solutions étalons qui contiennent des concentrations connues de l'espèce chimique à doser. Ces concentrations sont proportionnelles à l'absorbance, ainsi la pente de la droite de régression linéaire passant par zéro de la courbe Absorbance= f [étalon] permet de déterminer la concentration d'une solution inconnue si celle-ci est comprise dans les valeurs de la gamme.

2.5.6.1 Nitrate et nitrite

La lecture des absorbances s'est faite sur un lecteur de microplaque (96 puits) en mode absorbance pour le dosage NO_3^- et NO_2^- (iMark Absorbance Reader, modèle 168-1130).

Les teneurs en nitrate et en nitrite ont été déterminées avec la méthode du chlorure de vanadium (III) (García-Robledo *et al.* 2014; Schnetger et Lehnert 2014). Dans un premier temps, les concentrations en nitrite sont déterminées suivant la réaction de Griess (Hansen et Koroleff 1999). Cette méthode utilise un réactif qui est composé par un mélange de sulfanilamide N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride (NEDD) volume pour volume. En conditions acides, le nitrite réagit avec la sulfanilamide pour former un composé diazoïque qui va ensuite se coupler au NEDD pour former un complexe rose. Le nitrate est quant à lui dans un premier temps réduit par le chlorure de vanadium en nitrite, puis le nitrite produit est dosé par ajout du réactif de Griess. Après ajout des réactifs et 30 min d'incubation à 40°C dans l'obscurité, les absorbances sont mesurées à 540 nm. Les gammes étalons ont été préparées à partir de solutions commerciales de nitrate de potassium et de nitrite de sodium. Cette méthode permet donc d'avoir la concentration de la somme $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$. Par conséquent, il est nécessaire de faire la différence entre les deux analyses sur un même échantillon pour déterminer la concentration en nitrate. L'avantage de cette méthode est qu'elle peut être réalisée sur de petits volumes d'échantillons grâce à l'utilisation d'un lecteur de microplaque. De plus cette méthode est très sensible et permet de doser des concentrations faibles allant jusqu'à 0,4 μM pour le nitrate et de 0,07 μM pour le nitrite.

2.5.6.2 Ammonium

Le dosage de l'ammonium a été fait selon la méthode bleu indophénol (Koroleff 1966; Koroleff 1970). Cette méthode est une adaptation de la méthode de Berthelot qui permet d'éviter la précipitation des ions magnésium et hydroxyde de calcium de l'eau de mer (Searle 1984). En présence de chlore (milieu alcalin), l'ammonium est transformé en chloramine. Cette chloramine réagit avec le phénol pour former le complexe d'indophénol en milieu oxydant. Ce complexe est bleu et absorbe à 630 nm. Même si cette réaction est catalysée par du nitroprussiate, la stabilisation de la couleur du complexe prend au minimum 6h. La lecture de l'absorbance doit se faire dans les 24h après l'ajout des réactifs et la limite de détection de la méthode est de 0,02 μM . La gamme étalon a été préparée à partir de solution commerciale de NH_4Cl à 1000 ppm.

2.5.6.3 Sulfate

En présence de chlorure de baryum (BaCl_2), le sulfate précipite en milieu fortement acide pour former le sulfate de baryum (BaSO_4) qui est très peu soluble. La turbidité résultante est mesurée par photométrie à 420 nm. Le réactif utilisé est un réactif prêt à l'usage de la marque Thermo Scientific™ référencé sous l'appellation Reagent R1: 984648, 984649.

2.5.6.4 Sulfures

Les concentrations en sulfures ont été déterminées selon la méthode de Cline encore appelée méthode du bleu de méthylène (Cline 1969). Les sulfures dissous sont volatiles et facilement oxydables, par conséquent ils ont été analysés immédiatement après les prélèvements. En présence de chlorure ferrique, les sulfures réagissent avec le N,N-diméthyl- ρ -phenylenediamine pour former un complexe bleu. Cette méthode est valable pour les concentrations comprises entre 5 et 1000 μM . La lecture de l'absorbance se fait 670 nm et la gamme étalon a été préparée à partir de Na_2S .

2.5.7 Isotopes

Du fait du grand nombre d'interactions entre les cycles, des cinétiques rapides et que certaines molécules peuvent être à la fois substrat et produit, la mesure seule des concentrations ne permet pas de les caractériser les processus en présence. Il est alors nécessaire d'avoir recours à des traceurs qui permettent de suivre les réactions élémentaires. L'utilisation des isotopes stables comme outil de mesure, de suivis et d'identification des dynamiques écologiques est devenue courante dans les études environnementales ces dernières décennies.

L'analyse de la composition isotopique est réalisée par un spectromètre de masse isotopique (IRMS). L'échantillon à analyser est injecté dans l'appareil sous forme gazeuse (sous forme de N_2). En rentrant en contact avec la source, le gaz injecté va être ionisé et le faisceau gazeux est alors transformé en faisceau électronique. Le faisceau électronique est ensuite acheminé dans des conditions de vide poussé vers un électroaimant qui va transformer le faisceau électronique unique en plusieurs faisceaux dépendant de la quantité d'azote lourd et léger. Pour N_2 , il y a ainsi 3 faisceaux représentés par les masses 28 ($^{14}\text{N}^{14}\text{N}$), 29 ($^{14}\text{N}^{15}\text{N}$) et 30 ($^{15}\text{N}^{15}\text{N}$). Ces faisceaux individualisés sont collectés dans des cages de faraday et la composition isotopique sera déterminée relativement entre le nombre des molécules collectées et celles de l'étalon de référence.

La difficulté de la mesure de la composition isotopique des formes azotées, par exemple, réside dans la transformation off-line ou on-line des échantillons en N_2 sans générer un quelconque fractionnement isotopique. Pour les échantillons solides, (sols, filtres, plantes), la transformation en N_2 passe nécessairement par la combustion avec flash d'oxygène des échantillons. Après combustion, le gaz produit est introduit dans un four de réduction permettant de transformer en N_2 le N_2O qui serait produit pendant la combustion. Pendant ce travail de thèse, cette production de N_2 s'est faite on-line à l'aide d'un analyseur élémentaire (EA). Les compositions isotopiques ont été déterminées par le couplage entre un analyseur élémentaire (Vario PYRO cube, Elementar, Hanau, Allemagne) et un spectromètre de masse isotopique à flux continu (IRMS, IsoPrime, micromass, Manchester, Royaume-Uni) à l'Institut d'Ecologie et d'Environnement de Paris (IEES Paris).

3 Caractérisation biogéochimique des sédiments sous tapis microbien (ST) et des sédiments hors tapis microbien (HT) sur le site de la Manche-à-eau : Réactivité des sédiments

Les sédiments de mangroves sont souvent décrits comme réducteurs, riches en sulfures, hydromorphes, salés et ayant une activité microbiologique importante (Alongi 2005; Jacinthe et Groffman 2006; Lee *et al.* 2008). Au sein d'une même mangrove, la texture du sol et les propriétés physico-chimiques associées peuvent varier considérablement.

En transformant et en modifiant la chimie du sédiment par leur activité métabolique, liée à la décomposition de la matière organique, les micro-organismes régissent le cycle des nutriments ainsi que les cycles biogéochimiques au sein des mangroves (Holguin *et al.* 2001; Lin *et al.* 2019). En influençant le développement des communautés bactériennes, les paramètres physico-chimiques tels que la température, la quantité de matière organique, la nature du sédiment, la teneur en oxygène, le pH ou encore la salinité créent des conditions spécifiques à chaque zone de mangrove en impactant les cinétiques des processus qui s'y déroulent (Alongi 1988; Aragon *et al.* 1999; Prasad *et al.* 2008; Meyer *et al.* 2008; Sahoo et Dhal 2009; Burgin *et al.* 2011; Gu *et al.* 2012; Deng *et al.* 2015; Chen *et al.* 2016). Ainsi, caractériser les paramètres intrinsèques du milieu est crucial pour mieux comprendre l'importance relative de chacun des processus en présence et ainsi comprendre le fonctionnement global du milieu.

Bien qu'elles soient riches en matière organique de par leur efficacité pour la séquestration du carbone (Bouillon *et al.* 2008a; Kristensen *et al.* 2008), les mangroves sont généralement pauvres en éléments nutritifs (Alongi 1996; Feller *et al.* 2003a; Lee *et al.* 2008). Le recyclage des éléments nutritifs repose principalement sur la minéralisation de la matière organique. En effet, le recyclage des éléments nutritifs dans les sédiments de mangroves est étroitement lié à la décomposition de la matière organique, à l'origine de cette dernière, à la minéralogie sédimentaire et à l'ensemble des paramètres qui influencent les communautés bactériennes qui s'y développent (Aragon *et al.* 1999; Meyer *et al.* 2008; Prasad *et al.* 2008).

Au niveau de la Manche-à-Eau (Guadeloupe), un tapis microbien constitué principalement de 2 espèces de *Beggiatoaceae* benthiques (*Candidatus Maribeggiatoa* sp. et *Candidatus Isobeggiatoa* sp.) et de 4 espèces de cyanobactéries (2 espèces d'*Oscillatoria* et 2 espèces de

Planktothricoides chapitre 1.2.2.1.2.1) a été caractérisé en 2015 par Jean et ses collaborateurs. Ces bactéries sulfo-oxydantes de la famille des *Beggiatoaceae* forment des tapis microbiens à la surface des sédiments sulfidiques riches en matière organique (Jørgensen 1977a; Winkel *et al.* 2014; Jean *et al.* 2015), comme les sédiments de mangrove. Ainsi, dans la zone d'étude, deux types de sédiments sont identifiables, les sédiments Sous Tapis microbien (ST) et les sédiments qui ne présentent pas de tapis microbien encore appelés sédiments Hors Tapis microbien (HT). De ce fait, on peut faire l'hypothèse que la présence de ce tapis dans des zones localisées du site d'étude présage de conditions différentes entre ces deux types de sédiments.

Les tapis mixtes tel que celui retrouvé dans la zone d'étude constituent une cohabitation entre les organismes où chacun peut partager une strate qui peut varier en fonction des conditions du milieu (Fenchel et Bernard 1995; Mußmann *et al.* 2007). Ainsi, la composition du tapis varie au cours du temps et certaines espèces peuvent être en plus ou moins grande quantité voir complètement absentes exceptés les filaments d'*IsoBeggiatoa* qui sont présents quelles que soient les conditions du milieu. Ces bactéries se développent à la zone de transition des environnements oxiques et anoxiques où l'O₂ de l'eau de mer et l'H₂S provenant du sédiment sont en permanence fournis par diffusion (Jørgensen 1977b; Lens et Kuenen 2001; Jørgensen 2010; Jean *et al.* 2015). On s'attend donc à avoir des teneurs en sulfures plus importantes dans les sédiments ST que les sédiments HT. Parallèlement, dans les sédiments ST anoxiques plus proches des racines et plus riches en matière organique que les sédiments HT on s'attend à avoir une activité sulfato-réductrice plus élevée garantissant ainsi la production des sulfures indispensables à la croissance des *Beggiatoaceae*. De plus en couplant la dégradation de la matière organique à la réduction du nitrate et l'oxydation des sulfures, le tapis est susceptible d'influencer de façon concomitante les cycles biogéochimiques de l'azote et du soufre (Kamp *et al.* 2006; Burgin et Hamilton 2008). Ainsi des variations temporelles et spatiales de la biogéochimie du sédiment et des eaux porales au cours du temps en fonction de la présence ou non du tapis microbien et de ses caractéristiques sont à prévoir. Par conséquent, en présence du tapis, le taux de minéralisation de la matière organique devrait être plus important.

Il existe encore peu d'informations sur la dynamique de dégradation de la matière organique et sur la compréhension du couplage entre les cycles biogéochimiques de N, de C et S dans les mangroves (Nedwell *et al.* 1994). La bibliographie nous permet d'émettre l'hypothèse selon laquelle la présence du tapis microbien impacterait directement les conditions biogéochimiques du sédiment et de l'eau interstielle (Jørgensen 1977a; Sayama 2001; Sayama *et al.* 2005; Jørgensen 2010).

La réduction microbienne dissimilative du sulfate en sulfures est la voie prédominante de la minéralisation de la matière organique dans les sédiments marins anoxiques (Jørgensen *et al.* 2019). Cependant, la minéralisation de l'azote est à prendre en considération dans ces sédiments qui sont rapidement anoxiques.

Plusieurs questions se sont alors posées : Dans quelle mesure la présence du tapis microbien dans certaines zones impacte la biogéochimie des sédiments étudiés ? Quel est l'impact du tapis sur la distribution des nutriments dans les eaux porales ? Existe-t-il des différences spatiales dans la distribution des espèces dissoutes dans les eaux interstitielles ? Est-ce le tapis qui modifie les conditions sédimentaires et la biogéochimie des eaux interstitielles et/ou inversement est-il à des endroits spécifiques où les conditions environnementales lui sont favorables ? Les relations entre la présence du tapis microbien et la biogéochimie sédimentaire impliquent-elles des disparités de réactivité vis-à-vis de la matière organique entre les deux types de sédiments (sulfato-réduction, minéralisation de l'azote) ?

Pour répondre à ces questions le premier chapitre a pour objectif de rendre compte des différences biogéochimiques entre les sédiments ST et HT à travers l'étude des caractéristiques sédimentaires et de l'analyse des profils d'eaux interstitielles. Dans un second temps, les dynamiques de minéralisation de la matière organique des deux types de sédiments ont été appréhendées via l'étude des taux potentiels de sulfato-réduction et de minéralisation de l'azote.

3.1 Résultats et discussion

Les échantillons ont été recueillis dans la lagune de la Manche-à-Eau (chapitre 1.2.2.1) qui est une lagune marine en permanence inondée. Semi-fermée et peu profonde (1-2 m de profondeur), la Manche à Eau communique avec la Rivière Salée (Figure 28).



Figure 28 : Carte de localisation de la lagune la Manche à Eau (Guadeloupe, Géoportail)

Les carottes ont été réalisées dans les sédiments recouverts par du tapis microbien (sédiments ST) et dans les sédiments hors de ces tapis microbiens (sédiments HT). Quatre carottes de chaque type de sédiment ont été prélevées en avril 2017. Des profils d'eaux interstitielles ont été réalisés pour les sédiments ST et comparés aux résultats obtenus par les sédiments HT au niveau de la Manche-à-Eau.

3.1.1 Caractéristiques des sédiments sur les sites d'échantillonnage

La proximité (moins d'1m) entre les deux zones de prélèvements permet d'affirmer que les deux sédiments sont soumis au même régime de marée, aux mêmes salinités et qu'ils subissent les mêmes pressions physiques et anthropiques.

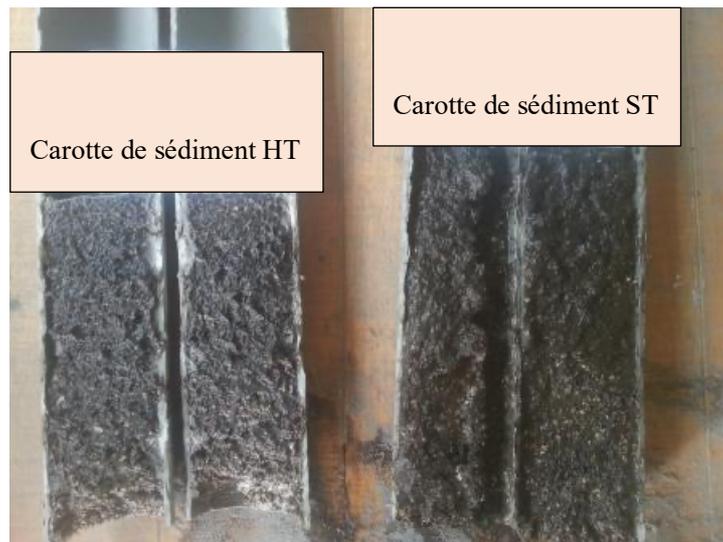


Figure 29 : Carottes de sédiment prélevées hors du tapis microbien (gauche) et sous le tapis microbien (droite) sur le site de la Manche à eau en avril 2017.

Pour autant, des différences structurales entre les sédiments ST et HT sont observables à l'œil nu (Figure 29). En effet, les sédiments recouverts de tapis microbien (ST) qui contiennent des débris de feuilles et de racines fines de *Rhizophora mangle* sont visuellement plus foncés et de granulométrie plus fine que les sédiments hors du tapis (HT).

Les zones d'oxydoréduction dans les sédiments marins sont souvent reconnaissables à leur couleur (Jørgensen et Nelson 2004). La coloration noire des sédiments indique soit une pigmentation organique, soit la présence de sulfures volatils et une absence d'oxygène (Howarth 1984; Kristensen *et al.* 1995; Castro *et al.* 2018). Ce constat est confirmé par une forte odeur soufrée émanant des sédiments ST alors que cette dernière est pratiquement inexistante au niveau de la carotte de sédiments HT.

Les sédiments ST, plus meubles que les sédiments HT, ont pu être prélevés à des profondeurs allant jusqu'à 30 cm alors que les prélèvements de sédiments ST n'ont pas pu être réalisés au-delà de 20 cm à cause de la présence de composés carbonatés (Figure 29). L'observation des sédiments HT et ST a montré la présence de nombreux éléments biogènes. Ces éléments biogènes carbonatés sont principalement constitués d'algues vertes aragonitiques du genre *Halimeda*, ainsi que d'autres restes calcaires de bivalves et de gastéropodes (principalement des coquilles aragonitiques de l'espèce *Caecum* [Gontharet *et al.*, 2016]). De petites quantités de foraminifères benthiques, de spicules d'oursins et de valves d'ostracodes ont également été observés. De la pyrite a aussi été identifiée cette dernière étant associée à des débris organiques ligneux (provenant principalement de palétuviers), et aux éléments carbonatés biogènes

(Gontharet *et al.* 2017). Cette même étude morphologique des sédiments par Gontharet *et al.* a démontré que la teneur en carbonate pour les sédiments HT est plus élevée (contenu moyen de 39 %) que dans les sédiments ST (contenu moyen 16%).

Des mesures de porosité ont été réalisées pour les deux types de sédiments tous les 4 centimètres entre 0 et 8 cm pour les sédiments HT et entre 0-30 cm de profondeur pour les sédiments ST dans le cadre de cette thèse. Sur le même intervalle de profondeur, les sédiments ST sont plus poreux que les sédiments HT et une diminution de la porosité est observée dans les deux types de sédiments avec la profondeur soit des valeurs respectives de 95,2% et 91,6% entre 0 et 4 cm et de 94% et 83,5 % entre 4 et 8 cm de profondeur. Ces résultats sont du même ordre de grandeur que ceux obtenus à Bangrong en Thaïlande (Kristensen *et al.* 2000) et dans une mangrove du Queensland en Australie (Meyer *et al.* 2008). La diminution de la porosité avec la profondeur est due à l'augmentation de la granulométrie des sédiments (diminution des quantités de limon et d'argile et augmentation des quantités de sable avec la profondeur). Les différences entre sédiments ST et HT s'expliquent quant à elles par le fait que les sédiments ST sont environ 2 fois plus riches en argiles et 1,4 fois plus pauvres en sable que les sédiments HT (Gontharet *et al.* 2017). Les sédiments des mangroves à *Rhizophora* sont typiquement caractérisés par un dépôt limoneux mou de 5 à 10 cm d'épaisseur recouvrant une couche compacte fibreuse (semblable à de la tourbe) et sulfurée de plus d'un mètre d'épaisseur (Kristensen *et al.* 1995), ce qui correspondrait aux observations faites pour les sédiments ST. Le comportement de la granulométrie le long des profils verticaux reflète l'hydrodynamisme d'un site pendant une période déterminée (Castro *et al.* 2018). Généralement, plus le sédiment est situé dans un emplacement calme et plus il aura une texture fine (Blasco 1982; Boto *et al.* 1984). Les différences de distribution de la taille des grains entre les deux zones peuvent en effet indiquer des variations dans les milieux de sédimentation. En effet, les résultats de l'étude réalisée par Gontharet *et al.* (2016) indiquent des vitesses d'écoulement et de marée plus faibles dans la zone de tapis microbien. Ces différentes distributions sont probablement dues la dissipation de l'énergie du courant et des vagues ainsi qu'à une modification des directions d'écoulement de l'eau interstitielle à cause de la présence du système racinaire des palétuviers. Ces modifications entraînent ainsi des changements dans la dynamique de la matière organique et dans la dynamique des cycles des nutriments (Gontharet *et al.* 2017).

Afin de déterminer la nature des éléments qui composent les sédiments HT et ST et leur proportion, une analyse EDX a été faite. Comme indiqué sur les spectres EDX (Figure 30), tous les pics sont communs aux sédiments HT et ST. Les deux types de sédiments sont

composés des mêmes éléments chimiques à savoir C, O, Na, Mg, Al, Si, S, Cl, K, Ca et Fe. En revanche, les proportions de ces éléments varient.

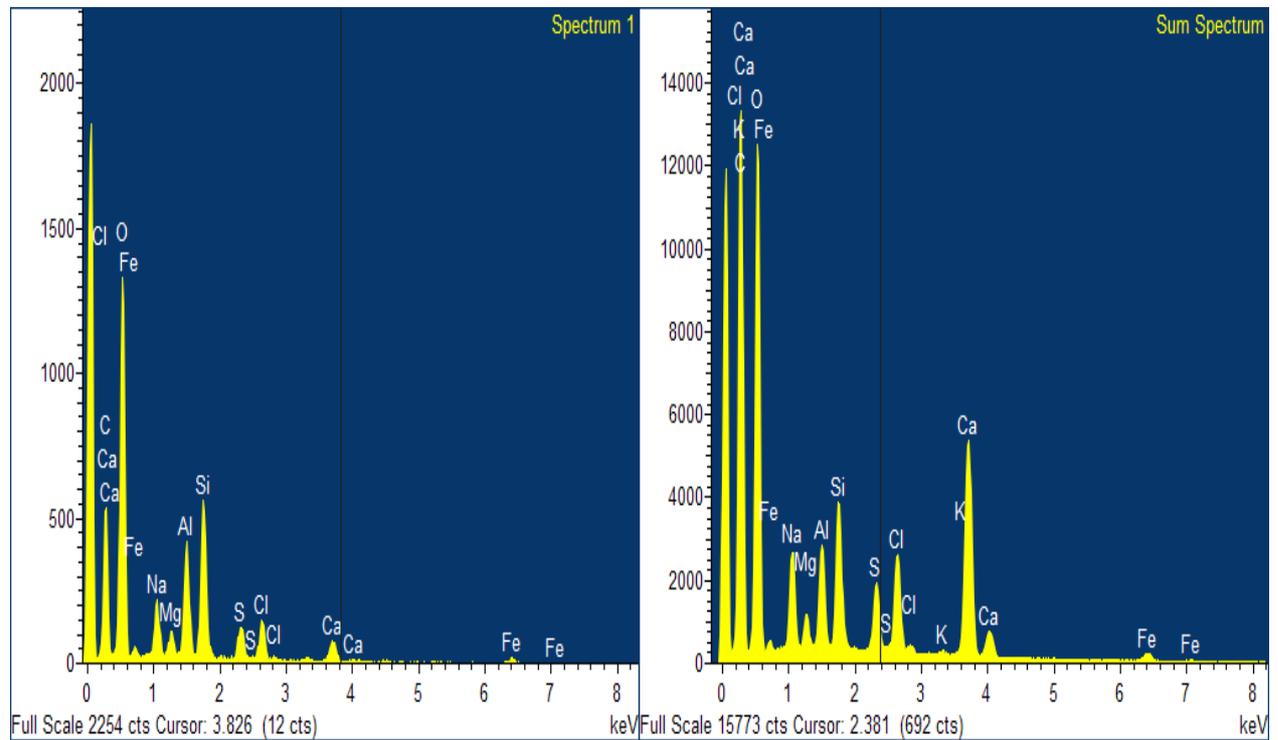


Figure 30 : Représentation graphique du spectre EDX des sédiments ST (gauche) et des sédiments HT (droite) prélevés entre 0 et 6 cm au niveau de la manche à eau.

Le Tableau 9 présente le pourcentage atomique des différents éléments chimiques identifiés dans les sédiments ST et HT en fonction des deux profondeurs échantillonnées. Les résultats présentés sont les moyennes obtenues à partir des duplicats analysés. Le pourcentage atomique des éléments chimiques obtenus est en cohérence avec la répartition classique des minéraux dans les sédiments de mangrove quartz>feldspath>argile>carbonate (Prasad *et al.* 2008) et avec la composition minéralogique obtenue par Gontharet *et al.*, 2016 sur la même zone d'étude (Manche à Eau), à savoir la présence carbonate de calcium, de pyrite et de minéraux argileux associés à de faibles quantités de quartz, de cristobalite et de feldspaths.

Tableau 9 : Pourcentage atomique des éléments chimiques identifiés par MEB-EDX dans les sédiments ST et HT entre 0-6 cm et 12-17 cm non décarbonatés prélevés dans la Manche à Eau.

Profondeur (cm)	Sédiment ST		Sédiment HT	
	0-6	12-17	0-6	12-17
Élément chimique	% Atomique			
C	51,34	64,46	63,80	42,64
O	37,21	27,41	28,07	42,24
Na	1,52	0,78	0,95	1,03
Mg	0,46	0,19	0,26	0,25
Al	1,77	0,57	0,65	0,44
Si	2,95	0,87	1,04	0,45
S	0,88	0,55	0,67	0,81
Cl	1,38	0,78	1,00	1,12
K	0,02	0,02	0,03	0,03
Ca	1,91	3,65	3,14	10,37
Fe	0,51	0,31	0,38	0,41

Les résultats de l'analyse élémentaire du contenu en azote et carbone des sédiments non décarbonatés sont présentés dans Tableau 10.

Tableau 10: Caractéristiques des sédiments ST et HT non décarbonatés prélevés dans la Manche à Eau.

Type de sédiment	Profondeur	%C	%N	C/N	$\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$
	cm	%poids	%poids	atome/atome	‰	‰
Sous tapis microbien	0-6	25,36	0,83	26,35	-21,0	3,0
	12-18	14,74	0,27	46,79	-6,6	3,6
Hors tapis microbien	0-6	33,35	0,71	40,55	-13,3	3,0
	12-18	16,53	0,61	23,23	-18,9	3,4

Pour les deux types de sédiments, une diminution du contenu en azote est observée avec la profondeur. Pour les sédiments HT, le contenu en azote diminue faiblement passant de 0,7% à 0,6% alors que pour les sédiments ST, une nette diminution du contenu en azote est observée avec la profondeur soit une variation de 0,83 % entre 0-6 cm à 0,27 % entre 12-18 cm. Sur les premiers centimètres, le contenu en azote total des sédiments ST est plus élevé que celui des sédiments HT. Situés à proximité des palétuviers, les sédiments ST ont probablement un contenu en matière organique plus important du à la chute des feuilles de palétuvier et leur rétention par le système racinaire (Kristensen *et al.* 2008; Castro *et al.* 2018). Le contenu en azote élevé dans les premiers centimètres des sédiments ST peut être aussi expliqué par présence du tapis microbien qui est composé à 1,12 % d'azote et qui ferait ainsi croître le contenu d'azote des sédiments ST (Tableau 11).

Tableau 11: Caractéristiques du tapis microbien

Type de sédiment	%C	%N	C/N	$\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$
	%poids	%poids	atm	‰	‰
Tapis microbien	8,66	1,12	6,60	-27,1	2,8

L'analyse élémentaire des sédiments non décarbonatés montre que pour les deux types de sédiments les teneurs en carbone total sont supérieures dans la couche superficielle (Tableau 10). De plus, aux deux profondeurs étudiées, le contenu des sédiments HT est plus élevé que celui sédiments ST. Le contenu en carbone des sédiments de mangrove varie généralement entre 2 à 15% du poids sec (Kristensen *et al.* 1995). Les résultats obtenus sont nettement supérieurs à ceux obtenus dans la bibliographie ce qui s'explique par le fait que les échantillons n'ont pas été décarbonatés avant analyse. Cependant, les sédiments de la zone avaient fait l'objets d'analyses élémentaires par Gontharet *et al.* (2016) et Crémère *et al.* (2017). Aux profondeurs considérées dans ce chapitre, la teneur en carbone organique des échantillons variaient entre 8,6 à 18,7 % (Gontharet *et al.* 2017) et de 4,9 à 18,8 % (Crémère *et al.* 2017) tandis que les teneurs en azote totale variaient respectivement entre 0,6 à 1,4 % et 0,3 et 1,4 %. Dans ces études les teneurs en carbone et en azote des sédiments ST sont supérieures à celles des sédiments HT. La comparaison des résultats obtenus dans ces études avec ceux obtenus dans le cadre de cette thèse montre une variation des contenus en azote au cours du temps. La diminution du contenu en azote dans les sédiments ST est probablement due à la diminution de

l'épaisseur du tapis microbien et à une dynamique de dépôt/dégradation de la matière organique différente entre les deux périodes d'échantillonnage.

Avec de valeurs comprises entre 15,1 et 20,1 (Crémière *et al.* 2017), le rapport C/N augmente avec la profondeur en dépit d'une diminution des contenus en azote et en carbone. Cette augmentation avec la profondeur indique que les composés azotés sont préférentiellement utilisés par rapport aux sources carbonées durant la décomposition de la matière organique (Rosenfeld 1981). Les rapports C/N sont plus élevés dans les sédiments ST que dans les sédiments HT. Cette variabilité du ratio C/N est généralement due à des différences dans la qualité de matière organique et à sa provenance.

Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ des deux types de sédiments augmentent avec la profondeur (variation entre -26.2 et -24.4 ‰) dans les études de Crémière *et al.* 2017 et de Gontharet *et al.* 2016. Cependant, cette tendance n'est pas retrouvée dans les mesures réalisées dans le cadre de cette thèse. Au-delà de la décarbonatation ; ces différences de tendances peuvent être expliquées par des processus de respiration microbienne différents. En effet, la respiration microbienne va induire un appauvrissement en ^{13}C du CO_2 minéralisé alors que les produits de dégradation vont être enrichis (Lallier-Verges *et al.* 1997).

Malgré cette différence de tendance pour le $\delta^{13}\text{C}$, le $\delta^{15}\text{N}$ est de 3 ‰ dans les deux types de sédiments et augmente avec la profondeur en atteignant respectivement 3,6 ‰ et 3,4 ‰ dans les sédiments ST et HT entre 12-18 cm. Cette augmentation avec la profondeur du $\delta^{15}\text{N}$ s'accompagne d'une diminution du contenu en azote du sédiment ce qui peut indiquer un enrichissement de l'azote résiduel caractéristique de la consommation de l'azote (Bowden 1984). La nitrification, la volatilisation, la dénitrification et la DNRA sont les principaux processus de fractionnement capables de modifier la composition isotopique du N présent dans le sédiment (Billy *et al.* 2010).

En ce qui concerne l'oxygène, à l'interface eau/sédiment, la concentration mesurée est de 107,6 μM dans les sédiments ST et de 144,8 μM dans les sédiments HT. La pénétration de l'oxygène est très faible dans les sédiments étudiés, et l'anoxie est atteinte dès le premier centimètre de profondeur (Jean 2013). Les sédiments des eaux côtières peu profondes riches en matière organique se caractérisent généralement par une pénétration de l'oxygène de quelques millimètres (Jørgensen 1983; Kristensen 2000; Burgos *et al.* 2018) ce qui est en accord avec les résultats obtenus. La pénétration de l'oxygène dans les sédiments est contrôlée par des processus de transport et de consommation directe ou indirecte induits par la respiration des

organismes benthiques. De ce fait, cette absence d'oxygène dès les premiers millimètres indique que les processus de dégradation du carbone organique ont lieu en anaérobie dans les sédiments étudiés.

La Figure 31 présente les profils de salinité et de pH des eaux porales des sédiments ST et HT.

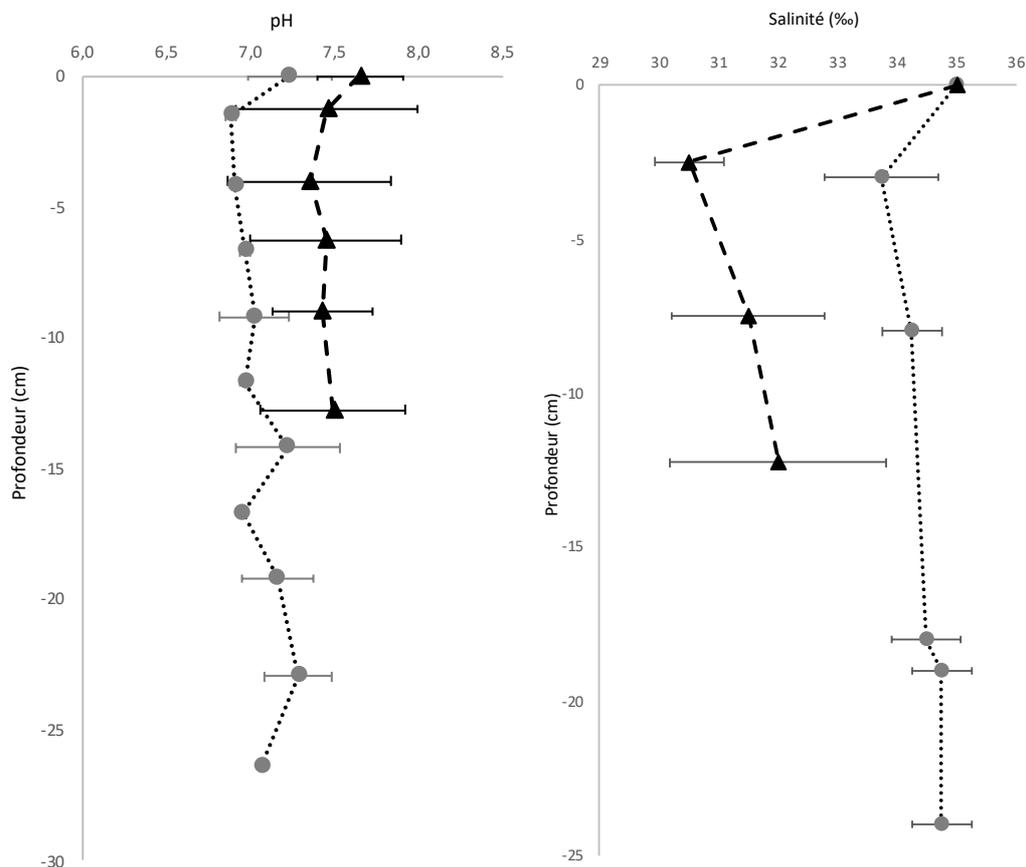


Figure 31 Profils de pH et de salinité de l'eau porale des sédiments sous le tapis microbien ST (cercle) et des sédiments hors du tapis microbien HT (triangle) prélevée dans la Manche à Eau.

Dans les sédiments ST, le pH varie entre 6,9 et 7,3. Pour les sédiments HT, le pH oscille entre 7,4 et 7,7. Pour les deux types de sédiments, le pH varie peu le long des profils cependant le pH est plus acide dans les sédiments sous le tapis microbien (environ une unité pH). Ces valeurs de pH plus faibles dans la zone de sédiment située sous le tapis microbien pourraient être dues à la proximité avec des palétuviers. L'oxygène libéré par leurs racines pourrait oxyder les sulfures et libérer un proton qui ce qui acidifierait l'eau interstitielle environnante lors de la formation de l'acide sulfurique (Middelburg *et al.* 1996b; Castro *et al.* 2018). De plus, les palétuviers peuvent aussi affecter l'équilibre acido-basique de leurs sédiments via l'absorption racinaire d'ammonium ou encore par l'émission de CO₂ respiratoire par les racines qui en

présence de calcium abaissera le pH du sédiment par la libération d'un proton H^+ (Middelburg *et al.* 1996b).

L'activité bactérienne a tendance à acidifier le milieu (Ratzke et Gore 2018). Selon l'étude menée par Sayama *et al.* en 2005, il semble qu'à l'interface oxiqne/anoxiqne, les bactéries de la famille des *Beggiatoaceae* préfèrent l'oxydation aérobie du H_2S qui est énergétiquement plus favorable mais aussi plus acidogène. Par conséquent cette acidification pourrait expliquer cette différence dans les pH sur les premiers centimètres entre les sédiments ST et HT. Cette oxydation par le tapis microbien agit comme une barrière finale à la libération du H_2S qui peut être toxique pour les autres organismes.

La salinité dans les sédiments couverts par la végétation et le tapis est plus élevée que dans les sédiments hors tapis. En effet dans les sédiments ST, la salinité varie entre 33,8 et 35‰ alors que dans le deuxième type de sédiment (HT), les valeurs sont comprises entre 30,5 et 35‰. En 2014, la salinité et la température étaient constantes et atteignaient respectivement une moyenne de 35 ‰ et 28 °C (Pascal *et al.* 2014). La salinité dans les sédiments est proche de celle de l'eau de mer, on peut donc supposer qu'il n'y a pas de dilution due à un apport d'eau douce.

En influençant l'activité, la composition et la structure des populations de micro-organismes, le pH et la salinité vont affecter les processus biogéochimiques qui opèrent dans les sédiments (Otero *et al.* 2006; Giblin *et al.* 2010; Wang *et al.* 2018; Ratzke et Gore 2018). Cependant, pour ces deux paramètres environnementaux, les faibles disparités mesurées entre les sédiments ST et HT ne permettent pas d'expliquer à elles seules les différences de réactivité entre les deux types de sédiments.

3.1.2 Les sources de la matière organique

Les principaux processus qui déterminent le contenu en matière organique du sédiments sont les apports via les détritns organiques, les entrées dues à la décomposition biologique et les sorties par les marées (Inoue *et al.* 2011).

Les valeurs de $\delta^{13}C$ et le ratio C/N sont largement utilisés comme traceurs pour la détermination de l'origine de la matière organique dans les sédiments (Lamb *et al.* 2006). Les déchets de palétuviers sont généralement considérés comme la source la plus importante de carbone

organique et de nutriments pour les sédiments de mangrove, cependant un éventail d'autres sources peuvent être également identifiées telles que les micro- et macro-algues benthiques et épiphytes, le phytoplancton et les matières importées par les rivières et la marée (Kristensen *et al.* 2017). Les valeurs élevées en carbone organique et en azote dans les couches supérieures de tous les sites d'échantillonnage indiquent un apport élevé de matières riches en matières organiques, typiques des sédiments de mangrove (Kristensen *et al.* 2008; Lallier-Vergès *et al.* 2008). Les études précédentes menées sur les sédiments HT et ST suggèrent que la matière organique est composée d'un mélange de matière organique d'origine terrestre (plantes en C3 de type *Rhizophora mangle*) et de matière organique d'origine marine (phytoplancton, algues) (Lallier-Vergès *et al.* 1997; Kristensen *et al.* 2008; Gontharet *et al.* 2017; Crémière *et al.* 2017). Ces publications mettent en lumière la variabilité dans la composition de la matière organique dans les deux types de sédiments. En effet, même si dans les deux types de sédiments la matière organique provient principalement des plantes terrestres en C3, les sédiments HT présentent des pourcentages de contribution de matière organique d'origine marine plus élevés que ceux des sédiments ST (38% contre 28%).

On sait que le système racinaire des mangroves affecte le dépôt de matière organique en empêchant sa dispersion et en permettant par conséquent des taux d'accumulation de matière organique plus élevés à proximité des racines des mangroves (Gontharet *et al.* 2017). Les taux de sédimentation de carbone organique de 386 ± 79 et 396 ± 111 gOC.m⁻².an⁻¹ dans les sédiments ST et de 199 ± 35 gOC.m⁻².an⁻¹ dans les sédiments HT (dépourvus de tapis microbien) sont parmi les valeurs les plus élevées signalées pour les sédiments de mangrove (Crémière *et al.* 2017). Une telle variabilité sur environ 1 m (distance d'échantillonnage entre les sédiments ST et HT) montre que l'hétérogénéité du substrat sédimentaire est contrôlée par une augmentation des dépôts de matière organique au cours du temps au niveau des sédiments ST. Cette augmentation est la conséquence du développement du système racinaire qui prévient la dispersion de la matière organique vers la lagune (Crémière *et al.* 2017). Le contenu en carbone organique diminue à mesure que l'on s'éloigne de la lagune et que l'on se rapproche de la zone agricole alors que la tendance inverse est observée pour le $\delta^{15}\text{N}$ (Mothet 2013). Les apports de la zone agricole ne semblent pas impacter les sédiments de la lagune (transect présenté dans le chapitre 1.2.2.1).

3.1.3 Les sulfates et sulfures libres dissous

3.1.3.1 Profils sulfate et sulfures

Dans les sédiments HT, qui ne présentent pas de tapis microbien les concentrations en sulfate varient entre 26,3 et 27,1 mM le long du profil et les concentrations en sulfures sont nulles (Figure 32). Selon Crémière *et al.* (2016), les faibles concentrations de sulfures dans les sédiments HT pourraient être dues à une meilleure réoxydation de ces derniers par le manganèse ou le fer étant données les faibles concentrations de ces éléments dans les sédiments étudiés.

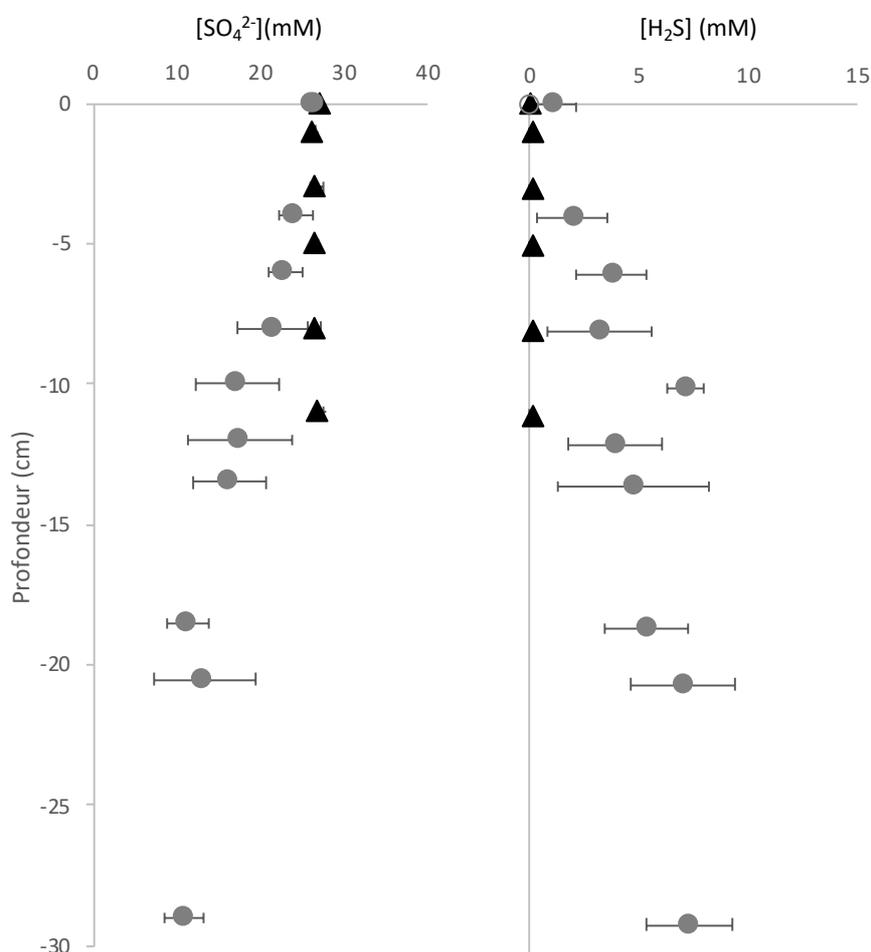


Figure 32 : Profils [H₂S] et [SO₄²⁻] dans l'eau poreuse des sédiments sous le tapis microbien ST (cercle) et des sédiments hors du tapis microbien HT (triangle). Pour chaque condition (ST/HT), les carottes ont été prélevées en duplicat les 7 février et 5 avril 2017. Les résultats présentés sont les moyennes des concentrations à ces deux dates avec en barre d'erreur les écart-types (n=4)

Dans les sédiments recouverts par le tapis microbien, les concentrations en sulfate diminuent de 26,7 mM dans l'eau sus-jacente à 10,9 mM dans les eaux interstitielles à 29 cm de profondeur. Parallèlement à la diminution des concentrations en sulfate, une augmentation des concentrations en sulfures d'hydrogène est observée avec le passage des concentrations de 3 μ M à 7,3mM aux mêmes profondeurs. Les concentrations en sulfures libres sont généralement faibles dans les sédiments de mangrove (de l'ordre du micromolaire) car ils sont rapidement précipités sous forme de pyrite (Kristensen *et al.* 1991; Lallier-Verges *et al.* 1997; Otero *et al.* 2006; Deborde *et al.* 2015b; Kamaleson et Gonsalves 2019). Cette tendance avait déjà été observée sur ce même type de sédiment par Crémère *et al.* en 2017, allant même jusqu'à l'épuisement du sulfate pour les sédiments ST.

La présence de sulfure d'hydrogène ainsi que l'accumulation de soufre dans les sédiments sont principalement contrôlées par le taux de réduction des sulfates et l'état d'oxydation des sédiments (Holmer *et al.* 1994). En effet, dans les sédiments marins et côtiers réducteurs, la réduction du sulfate représente une partie importante de la respiration des organismes benthiques (Froelich *et al.* 1979; Brown 1982; Jørgensen 1983; Kristensen *et al.* 1991; Canfield *et al.* 1993; Habicht et Canfield 1997; Pallud et Van Cappellen 2006; Burgos *et al.* 2018). Les bactéries sulfato-réductrices utilisent en anaérobie les sulfates comme accepteur d'électron pour oxyder le carbone organique et produire des sulfures et du dioxyde de carbone (Hines et Lyons 1982). En absence d'oxygène, la sulfato-réduction est connue pour être le principal processus de minéralisation de la matière organique dans les écosystèmes côtiers marins et peut représenter jusqu'à 80% de la minéralisation du carbone organique, soit une réduction 5.10¹²kg de sulfate par an (Howarth et Giblin 1983; Jørgensen 1983; Loka Bharathi 2008; Jørgensen et Parkes 2010). Ainsi, les profils de sulfate et de sulfure d'hydrogène obtenus dans les sédiments étudiés ainsi que la disponibilité du sulfate dans le milieu traduisent probablement des différences de réactivité liées à la réduction du sulfate dans ce deux types de sédiments. Les tendances suivies suggèrent que la sulfato-réduction pourrait être une voie de minéralisation de la matière organique plus importante dans les sédiments ST que dans les sédiments HT.

3.1.3.2 Taux de sulfato-réduction

Les taux de réduction des sulfates ont été largement étudiés dans les sédiments marins (Hines et Lyons 1982; Canfield 1993; Canfield *et al.* 1993; Alongi *et al.* 1999; Odum 2000; Crémère *et al.* 2017; Bhattarai *et al.* 2018). Dans les milieux salés/saumâtres hautement productifs, la réduction du sulfate est souvent le processus de respiration dominant car les sulfates est le

deuxième anion le plus abondant dans l'eau de mer (Habicht et Canfield 1996; Habicht et Canfield 1997; Kasten et Jørgensen 2000; Holmer *et al.* 2001b).

Les taux potentiels de sulfato-réduction ont été déterminés pour les sédiments ST et HT dans le cadre de cette thèse en décembre 2015 et comparés à ceux obtenus en octobre 2013 (communication Annet Laverman) (Figure 33). Pour se faire les sédiments ST et HT ont été placés dans des réacteurs à flux continu avec pour seul accepteur d'électron du sulfate à 2,9 mM (2.4.1.2 Mesure de la sulfato-réduction).

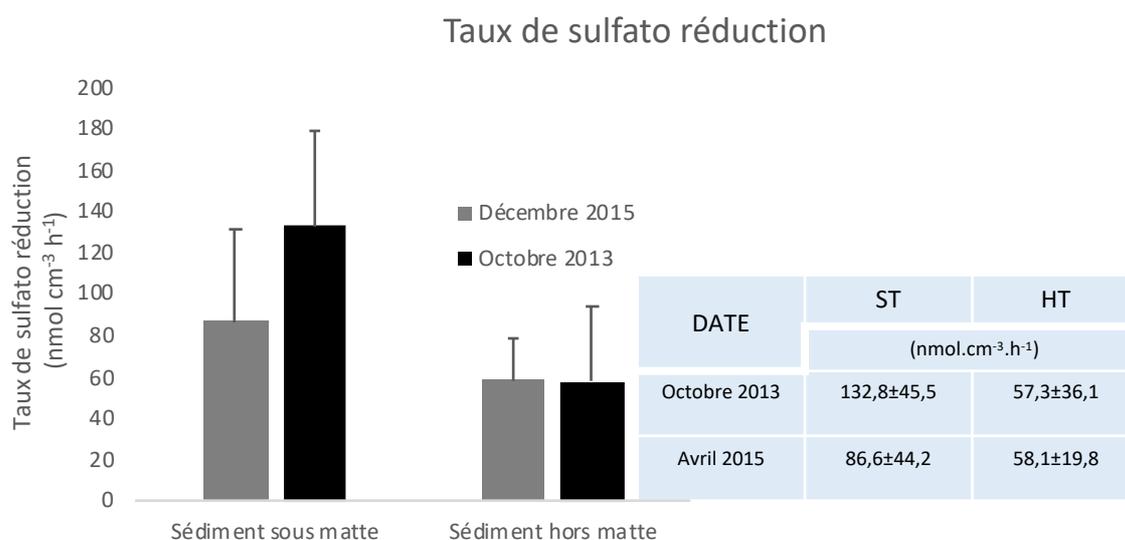


Figure 33 : Taux de réduction du sulfate dans les sédiments HT et ST obtenus après incubation en réacteur à flux continu alimenté par une solution nourrice de sulfate en octobre 2013 (noir) et décembre 2015 (gris).

Pour les deux types de sédiments, une réduction de sulfate est observée. Dans les sédiments HT, les taux sont pratiquement similaires d'une année à l'autre soit un taux de $57,3 \pm 36,1 \text{ nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$ en 2013 et un taux de $58,1 \pm 19,8 \text{ nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$ en 2015.

Pour les deux périodes échantillonnage les taux potentiels de sulfato-réduction dans les sédiments ST sont supérieurs à ceux obtenus dans les sédiments HT ce qui est cohérent avec la diminution du sulfate et l'augmentation du sulfure obtenus. Cependant, en dépit des forts taux de sulfato-réduction, les concentrations en sulfures à l'interface eau/sédiment dans les sédiments ST sont nulles. L'absence de sulfures peut être due à l'efficacité de leur oxydation par les bactéries sulfo-oxydantes dont les *Beggiatoaceae* qui peut avoir pour conséquence de garder ces concentrations proches de 0 (Jørgensen et Nelson 2004). Les expériences menées par Sayama *et al.* (2015) ont aussi démontré que les *Beggiatoacea* pouvaient induire une zone suboxique appauvrie en H_2S de plus de 10 mm.

Dans certains environnements côtiers riches en matière organique, le H₂S peut diffuser librement jusqu'à la surface des sédiments si les oxydes métalliques réactifs sont tous réduits. Ce qui pourrait expliquer l'absence de diffusion de sulfures dans les sédiments HT pour lesquels la réduction du sulfate n'est pas associée à une production de sulfure détectable dans les eaux interstitielles (Jørgensen et Nelson 2004). Selon Crémière et al. (2017), les taux de réduction de sulfate plus faibles dans les sédiments HT pourraient être dus à la réoxydation du soufre à travers la réaction de disproportionation même si l'utilisation des isotopes du soufre dans l'étude en question n'a pas permis de conclure sur cette hypothèse.

Les zones à fort taux de réduction du sulfate soutiennent la présence du tapis microbien, en effet les sulfures diffusant jusqu'à la colonne d'eau sont oxydés en partie par les *Beggiatoaceae* à l'interface eau-sédiment ou même légèrement au-dessus dans la colonne d'eau (Jean *et al.* 2015). A noter que pour les sédiments ST, les taux sont plus importants en octobre 2013 qu'en décembre 2015 soit une diminution du taux de sulfato-réduction de 34 % avec un passage du taux de $132,8 \pm 45,5$ à $86,6 \pm 44,2$ nmol.cm⁻³.h⁻¹. Ces deux expériences ont été réalisées durant la saison des pluies. Cependant en 2013 le tapis microbien était plus épais qu'en 2015 apportant un argument supplémentaire en faveur de l'interaction entre le tapis microbien et la zone à forts taux de sulfato-réduction.

Les taux potentiels obtenus dans les sédiments ST sont supérieurs au taux de 20,8 nmol.cm⁻³.h⁻¹ calculé à partir du modèle utilisé par Crémière *et al.* (2017) sur le même type de sédiments. Ces taux sont aussi supérieurs à ceux obtenus dans d'autres mangroves périodiquement exondées (Kristensen *et al.* 1991; Kristensen *et al.* 1992; Nedwell *et al.* 1994). Les taux plus importants sur notre zone d'étude pourraient être dus au facteur immersion des sédiments qui influe sur les taux de sulfato-réduction. En effet, les sédiments de mangrove saturés d'eau et anoxiques présentent des conditions favorisant une décomposition lente de la matière organique permettant l'accumulation de carbone organique disponible pour les micro-organismes. De ce fait, c'est généralement la différence dans la disponibilité et la qualité du carbone organique des sédiments d'un site à un autre qui entraîne des variations spatiales des taux de réduction de sulfate (Pallud et Van Cappellen 2006; Kristensen *et al.* 2008; Behera *et al.* 2014).

Les analyses réalisées dans le cadre de cette étude ne permettent pas de conclure sur le caractère labile du carbone entre les deux types de sédiments cependant les taux potentiels de sulfato-réduction plus élevés dans les sédiments ST que dans les sédiments HT indiquent que la matière

organique des sédiments ST ou plus dégradable/réactive. De plus les taux d'accumulation de carbone organique sont plus faibles au niveau des sédiments HT (Crémière *et al.* 2017), ce qui va dans le sens d'une réduction globale moins prononcée des sulfates. En effet, malgré la faible distance qui sépare les sédiments HT et les sédiments ST, la sulfato-réduction dans les sédiments ST serait essentiellement conduite par l'oxydation du carbone organique alors que dans les sédiments HT ce processus y est plus faible ce qui serait probablement dû à un couplage avec le processus de disproportionation (Crémière *et al.* 2017). De plus il se peut que les caractéristiques du tapis (proportion des micro-organisme, épaisseur...) et les conditions environnementales (température, pluviométrie, etc.) aient probablement évolué d'une année à l'autre impactant ainsi plus fortement le processus de sulfato-réduction dans les sédiments ST.

3.1.4 Les espèces azotées : nitrate, nitrite et ammonium

3.1.4.1 Profils espèces azotées

Comme pour les sulfates, des profils des espèces azotées (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+) ont été réalisés sous les sédiments ST et sous les sédiments HT (Figure 34).

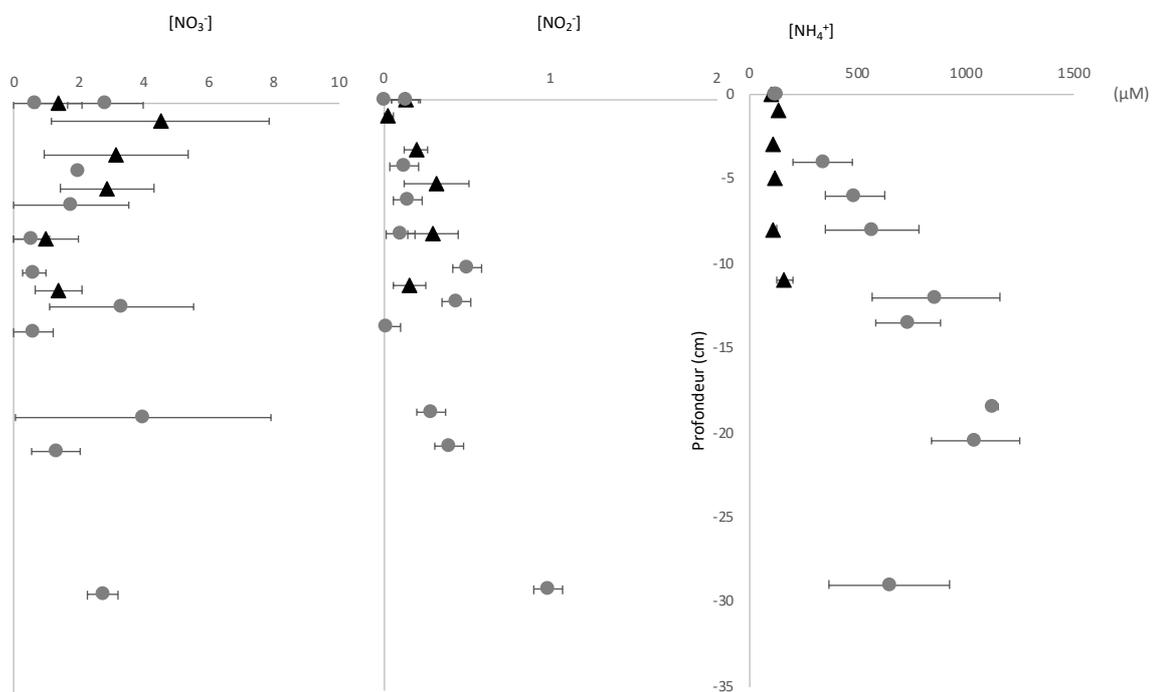


Figure 34 : Profils $[\text{NO}_3^-]$, $[\text{NO}_2^-]$ et $[\text{NH}_4^+]$ en μM , dans l'eau porale des sédiments sous le tapis microbien ST (cercle) et des sédiments hors du tapis microbien HT (triangle). Pour chaque condition (ST/HT), les carottes ont été prélevées en duplicat les 7 février et 5 avril 2017. Les résultats présentés sont les moyennes des concentrations à ces deux dates avec en barre d'erreur les écart-types (n=4).

Les concentrations en nitrate et nitrite sont très faibles aussi bien pour les sédiments ST que les sédiments HT avec des concentrations en nitrate qui varient entre 0,5 et 4,5 μM et les concentrations en nitrite qui oscillent entre 0 et 1 μM . Même si jusqu'à 8 cm de profondeur, les concentrations en nitrite sont très légèrement supérieures dans les sédiments HT; les concentrations en nitrite dans les deux types de sédiments sont stables le long des profils et il n'y a pas de différence nette observable entre les profils des sédiments ST et ceux HT. Ces faibles concentrations sont du même ordre de grandeur que celles obtenues dans les sédiments de mangrove de Gazi bay au Kenya au niveau des stations implantées dans les zones à *Rhizophora* (Middelburg *et al.* 1996b) ou encore dans d'autres sédiments de mangrove (Woodroffe 1992; Alongi *et al.* 1998; Chen et Twilley 1999). Les concentrations d'azote inorganique dissous sont relativement faibles dans les mangroves, du fait de l'absorption rapide et efficace des matières dissoutes par les bactéries (Alongi 1996). Dans de telles conditions réductrices, il n'est pas étonnant que les concentrations en nitrite et en nitrate soient très faibles. Dans les sédiments étudiés, les faibles concentrations mesurées en nitrate et nitrite présument donc que ces éléments se trouvent en conditions limitantes dans le milieu, et laisse supposer que tout ce qui est produit est aussitôt consommé (McKee *et al.* 2002). Dans les sédiments ST, les concentrations en nitrate sont pratiquement nulles vers 10 cm, c'est à cette même profondeur que les concentrations en sulfate diminuent plus fortement (Figure 32). Le sulfate et le nitrate sont potentiellement consommés de façon concomitante par les micro-organismes présents dans les sédiments.

La présence du tapis microbien peut directement influencer la disponibilité en azote dans les sédiments et donc les concentrations en nitrate (Sayama *et al.* 2005; Enrich-Prast *et al.* 2016). En effet, les *Beggiatoaceae* qui composent ce tapis sont susceptibles en absence d'oxygène d'oxyder le sulfure d'hydrogène avec le nitrate et donc de consommer ce dernier ce qui pourrait justifier les concentrations en nitrate plus faibles dans les sédiments ST que dans les sédiments HT (Jørgensen et Nelson 2004; Sayama *et al.* 2005; Jørgensen 2010).

L'ammonium est la source d'azote prédominante dans les deux types de sédiments. Dans les sédiments HT, les teneurs en ammonium varient entre 97,8 et 163 μM alors que cette variation est comprise entre 123,2 et 1127,5 μM pour les sédiments ST. La gamme de concentration d'ammonium obtenue est importante, avec des concentrations supérieures à celles mesurées dans de nombreux estuaires et mangrove à travers le monde (Valiela *et al.* 2020). Les augmentations de concentration avec la profondeur se traduisent par deux tendances nettement différentes des profils de concentration. Alors que dans les sédiments HT l'augmentation est

faible le long du profil, dans les sédiments ST cette dernière est très forte. Ces grandes quantités d'ammonium peuvent résulter d'une production intense liée au processus de minéralisation de la matière organique sans absorption par la végétation (Nedwell *et al.* 1994; Middelburg *et al.* 1996b; Alongi *et al.* 1998; Lee *et al.* 2008). Néanmoins, même si les carottes ont été réalisées à proximité des racines, aucun des prélèvements ne présentaient de systèmes racinaires susceptibles d'absorber l'ammonium produit et ce qui alimente l'hypothèse d'une accumulation en profondeur de l'ammonium dans les sédiments ST.

Pour les sédiments ST, le profil de sulfate obtenu est donc en cohérence avec les profils types d'ammonium liés au processus de minéralisation de la matière organique dans les couches de sédiments anoxiques de mangrove riches en matière organique. Ce constat est un argument en faveur de l'hypothèse de l'existence d'une forte minéralisation de la matière organique azotée dans les sédiments ST. La stabilité avec la profondeur du profil de concentration obtenu dans les sédiments HT est quant à lui plus atypique. Cette absence d'accumulation avec la profondeur peut être due à une consommation de l'ammonium ou à un processus de minéralisation plus lent dans les sédiments HT.

Pour tous les paramètres analysés, les tendances suivies par les concentrations en H_2S , SO_4^{2-} et en NH_4^+ diffèrent entre les deux types de sédiments ce qui est un nouvel argument en faveur de l'hypothèse de différences de minéralisation de la matière organique entre les sédiments HT et ST. Les concentrations faibles en nitrate et nitrite dans les eaux interstitielles suggèrent une dynamique rapide entre les processus de production et de consommation. Les sédiments étudiés agiraient donc comme des puits pour les formes azotées dû à l'absorption par les producteurs primaires, y compris les palétuviers, au recyclage par minéralisation de la matière organique et à la sédimentation (Rao *et al.* 2019).

3.1.4.2 Taux de minéralisation

Même si la minéralisation de l'azote est moins importante biogéochimiquement que la minéralisation du soufre à cause des faibles concentrations de nutriments azotés présentes dans les sédiments de mangrove, ce processus reste énergétiquement plus favorable pour les micro-organismes. Compte tenu des faibles teneurs en nitrate et en nitrite, le recyclage par la minéralisation est probablement la source principale d'azote inorganique pour les producteurs primaires des sédiments de mangroves sauf en cas d'importantes sources anthropiques (Feller *et al.* 2003a; Alongi 2013; Kristensen *et al.* 2017). Comme vu dans la section précédente, alors que les concentrations en ammonium augmentent faiblement le long du profil dans les

sédiments HT (de 97,8 à 163 μM), cette augmentation est nettement plus importante dans les sédiments ST (de 123,2 à 1127,5 μM). Les disparités obtenues dans les tendances suivies par les profils en ammonium peuvent résulter de différences dans le processus de minéralisation de la matière organique dans les sédiments ST et HT.

Afin de vérifier si les quantités d'ammonium produites par minéralisation peuvent à elles seules expliquer les concentrations mesurées dans les eaux porales, des expérimentations de minéralisation de type batch ont été réalisées en laboratoire. Les concentrations en ammonium dans des « batch boue » ont été suivies au cours du temps d'incubation comme présenté dans l'exemple donné en Figure 35. Pour l'ensemble des sédiments incubés, une production d'ammonium est observée. Les taux de production d'ammonium ont été calculés grâce à l'équation des courbes de régression linéaire (courbes en pointillés).

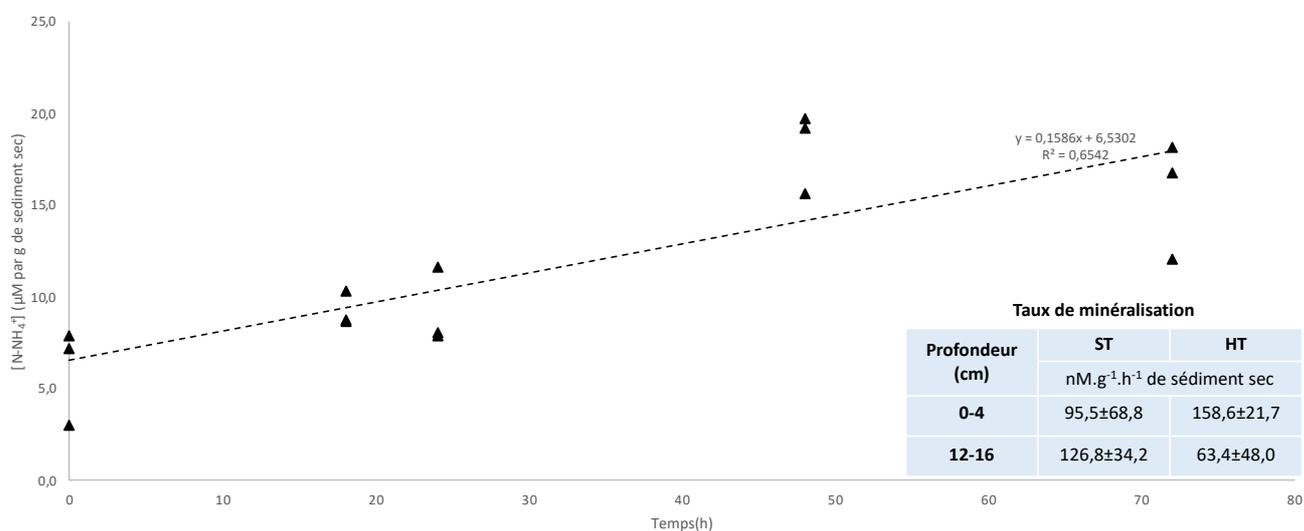


Figure 35 : Changement de concentration en ammonium dans les batch après incubation des sédiments HT entre 0 et 4 cm au cours du temps. La pente indique le taux de minéralisation en μM (N-NH_4^+).g⁻¹.h⁻¹ de sédiment sec. Tableau des taux de minéralisation des deux types de sédiments ST et HT entre 0-4 cm et 12-16 cm de profondeur (n=3).

Dans les sédiments ST, les taux de minéralisation sont respectivement de 95,5 et 126,8 nM N-NH_4^+ .g⁻¹.h⁻¹ entre 0 et 4 cm et 12 et 16 cm. Il y a donc une augmentation du taux de minéralisation avec la profondeur. Ces taux de minéralisation sont cohérents avec les profils de concentrations soit une accumulation d'ammonium avec la profondeur dans les sédiments ST.

Dans les sédiments HT, le taux de minéralisation N-NH_4^+ est de 158,6 nM N-NH_4^+ .g⁻¹.h⁻¹ entre 0 et 4 cm et passe à une valeur 63,4 nM N-NH_4^+ .g⁻¹.h⁻¹ de entre 12 et 16 cm (Figure 35). Une diminution du taux de minéralisation est donc observée avec la profondeur.

La production d'ammonium par minéralisation potentielle est plus importante dans les sédiments HT que dans les sédiments ST dans les premiers centimètres. La tendance inverse est observée dans la couche plus profonde pour laquelle le taux obtenu dans les sédiments ST est pratiquement deux fois supérieur à celui obtenu dans les sédiments HT.

Pour l'incubation des sédiments dans le cadre de l'expérience « batch sédiment », la Figure 36 présente l'augmentation des concentrations en N-NH_4^+ au cours du temps dans l'eau interstitielle des sédiments ST (entre 12 et 18 cm) après incubation de ces derniers.

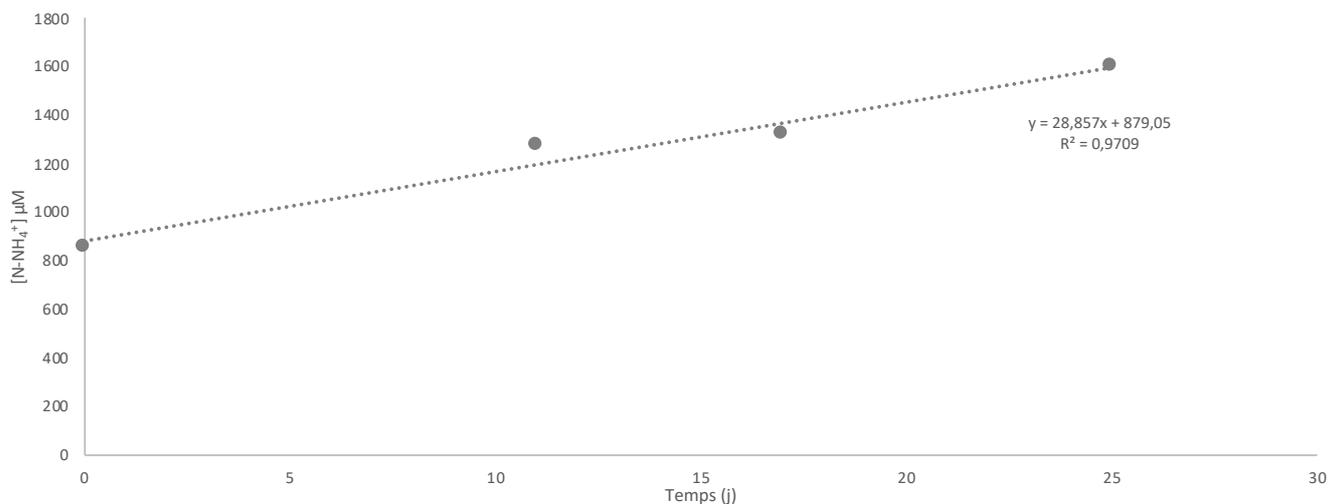


Figure 36 : Changement de concentration en ammonium dans les eaux interstitielles des sédiments sous le tapis microbien entre 12 et 18 cm au cours du temps récupérées après sacrifice des flasques et centrifugation. La pente indique le taux de minéralisation en $\mu\text{M (N-NH}_4^+)$.j⁻¹

Pour l'ensemble des incubations à savoir pour les deux types de sédiments et pour les deux profondeurs échantillonnées, une production d'ammonium est observée. Tout au long de l'expérience, les concentrations en ammonium augmentent et ces dernières sont plus élevées dans les sédiments ST que dans les sédiments HT ce qui est en accord avec les résultats obtenus lors de la réalisation de l'expérimentation précédente.

Entre 0 et 6 cm, le taux de production d'ammonium est du même ordre de grandeur dans les sédiments SM et HT soit respectivement de 98,9 et 104,0 $\text{nM N-NH}_4^+ \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ de sédiment sec (Tableau 12). La présence du tapis microbien ne semble donc pas influencer le processus de minéralisation sur les premiers centimètres. Ce qui n'était pas le cas dans les batch boue pour laquelle la différence de minéralisation était nettement plus élevée dans les sédiments HT. En revanche pour cette deuxième expérience, dans les sédiments ST, le taux de production d'ammonium est 3 fois plus élevé que dans la HT pour la couche à 12-18 cm. En effet, pour

ST, le taux de minéralisation à cette profondeur est de 85,2 nM N-NH₄⁺.g⁻¹.h⁻¹ tandis que pour les sédiments HT le taux est de 27,4 nM N-NH₄⁺.g⁻¹.h⁻¹.

Tableau 12 : Caractéristiques des sédiments, de l'eau porale et du taux de minéralisation pour les sédiments ST et HT.

Type de sédiment	Profondeur	Sédiments (non décarbonatés)					δ ¹⁵ N-NH ₄ ⁺ de l'eau porale avant (av) et après (ap) incubation		Minéralisation N-NH ₄ ⁺
		%N	%C	C/N	δ ¹³ C/ ¹² C	δ ¹⁵ N/ ¹⁴ N	δ ¹⁵ N/ ¹⁴ N _{av}	δ ¹⁵ N/ ¹⁴ N _{ap}	
	cm	%poids	%poids	atome/atome	‰	‰	‰	‰	nM.g ⁻¹ .h ⁻¹ de sédiment sec
Sous tapis microbien	0-6	0,83	25,36	26,35	-21,0	3,0	6,4	3,1	98,9
	12-18	0,27	14,74	46,79	-6,6	3,6	4,5	4,9	85,2
Hors tapis microbien	0-6	0,71	33,35	40,55	-13,3	3,0	20,2	3,6	104,0
	12-18	0,61	16,53	23,23	-18,9	3,4	23,6	8,6	27,4

La diminution du taux de minéralisation avec la profondeur est accompagnée d'une diminution du contenu en carbone des sédiments (Tableau 12). La différence du taux de minéralisation entre le sédiment de surface et celui en profondeur est probablement due à l'hétérogénéité de la nature des sédiments entre les deux zones. Cette disparité peut aussi être liée à la disponibilité et à la réactivité du carbone organique qui joue un rôle clé dans la régulation du processus de minéralisation en servant de source d'énergie aux micro-organismes hétérotrophes (Middelburg *et al.* 1996a). En effet, les débris fraîchement déposés près de la surface des sédiments sont plus susceptibles d'être labiles et de soutenir des taux de minéralisation plus élevés que les tourbes plus anciennes ou les matières organiques dissoutes dans les sédiments plus profonds (Tobias *et al.* 2001; Molnar 2011). De plus les taux de minéralisation sont généralement plus élevés dans les sédiments boueux que dans ceux qui sont plus sableux (Lin *et al.* 2016b).

Dans les deux types de sédiments la production d'ammonium durant les incubations en anaérobie peut être induite par le processus de DNRA ou par les processus de dénitrification sulfureuse comme observé dans les sédiments d'un marais côtier situé à Port-au-Prince

(Jacinthe et Groffman 2006). Les résultats de cette étude suggèrent que les micro-organismes dénitrifiants se trouvant dans des zones à forte teneur en sulfures pourraient s'adapter à la présence de ce dernier, permettant un recyclage efficace des éléments nutritifs par le biais du couplage des cycles géochimiques de l'azote et du soufre (Jacinthe et Groffman 2006). La présence de tapis microbien sur les sédiments a un effet significatif sur les processus qui s'y déroulent (Enrich-Prast *et al.* 2016). Les micro-organismes qui composent le tapis microbien favoriseraient la piste de la DNRA. En effet, en présence de *Beggiatoaceae*, la DNRA dominerait vis-à-vis de la dénitrification (Sayama 2001; Jørgensen et Nelson 2004).

Les valeurs de $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ des eaux interstitielles après l'incubation sont proches de la signature isotopique de l'azote contenu dans les sédiments. Dans les deux types de sédiments la valeur est de 3 ‰; un enrichissement isotopique est observé avec la profondeur et ces valeurs atteignent alors 3,6 ‰ pour les sédiments ST et 3,4 ‰ pour les sédiments HT. Cet enrichissement avec la profondeur est conforme avec la minéralisation anoxique des débris biogéniques (Cermelj *et al.* 2001).

Dans les sédiments ST, les valeurs de $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ après 25 jours d'incubation sont de 3,1 ‰ à 0-6 cm et de 4,9 ‰ à 12-18 cm. Dans les eaux interstitielles de HT, ces valeurs sont respectivement de 3,6 ‰ et de 8,6 ‰.

En comparaison, dans les eaux interstitielles les valeurs *in situ* atteignent 6,4 ‰ et 4,5 ‰ respectivement à 0-6 cm et 12-18 cm dans les sédiments ST et 21,2 et 23,6 ‰ dans le sédiment HT. Nos données indiquent que l'activité microbienne provoque une diminution de l'abondance de l'isotope ^{15}N dans l'eau interstitielle. En 1980, Sweeney et Kaplan (1980) ont étudié les rapports isotopiques de l'ammonium dans 38 échantillons d'eau porale extraites de carottes sédimentaires prélevées en Californie dans le bassin de Santa Barbara. Dans cette étude les valeurs de $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ variaient entre 8,2 et 12,4 ‰ suggérant que l'ammonium de l'eau porale était produit par la dégradation de la matière organique marine. Bien qu'élevés, les résultats obtenus dans l'eau porales avant incubation des sédiments ST sont cohérents avec $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ dérivée de la dégradation de la matière organique d'origine marine et terrestre. Cependant les expériences réalisées et la bibliographie n'expliquent les valeurs anormalement hautes obtenues dans les sédiments HT.

Les taux de minéralisation de la matière organique dépendent des paramètres environnementaux tels que la température, la salinité, l'hydrodynamique et de l'origine de la matière organique et de sa composition. Plus la matière organique devient réfractaire moins la

minéralisation sera efficace. Les taux de minéralisation sont plus élevés dans les sédiments de surface ce qui est probablement dû en partie à un apport plus direct d'accepteurs d'électrons terminaux la diminution de la minéralisation dans les couches plus profondes est certainement limitée par l'apport de matière organique labile disponible pour la minéralisation. Les détritiques fraîchement déposés près de la surface des sédiments sont plus susceptibles d'être labiles et de soutenir des taux de minéralisation plus élevés que les tourbes plus anciennes ou les matières organiques dissoutes dans les sédiments plus profonds (Tobias *et al.* 2001). Cependant, il est difficile d'établir des relations directes entre les taux de décomposition de la matière organique et la composition de la matière organique (Middelburg *et al.* 1993; Alongi *et al.* 2005; Lin *et al.* 2016a). Ainsi, notre étude ne nous permet pas de conclure sur la quantité et la qualité de la matière organique dans les zones de mangroves étudiées.

Ce type de mesure des taux de minéralisation présente des limites. Les produits des réactions chimiques peuvent subir d'autres réactions et ne pas s'accumuler dans la phase solide sédimentaire ou l'eau interstitielle ce qui empêche la caractérisation exacte de chacun des processus (Reeburgh 1983). Le mécanisme d'immobilisation par incorporation dans la biomasse microbienne est mal connu (Davidson *et al.* 2003; Benner *et al.* 2006) et la part de l'immobilisation même si elle est difficilement mesurable impacte les mesures d'ammonium (Reis *et al.* 2017b). Des mesures d'immobilisation de l'ammonium réalisées dans des sédiments de la mer de Chine montrent que l'immobilisation peut compter pour $9.82 \mu\text{gN}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ (Lin *et al.* 2016b). La difficulté d'isolation du processus de minéralisation de l'azote, l'échelle de temps de la minéralisation (mois à année), ainsi que la variété des composés organiques formant le pool d'azote organique explique la rareté des études consacrées à la caractérisation de ce processus en particulier à celles destinées à la détermination du facteur d'enrichissement isotopique (Denk *et al.* 2017).

3.1.4.3 Étude des flux d'ammonium sédiment-colonne d'eau

L'impact des communautés microbiennes sur la colonne d'eau peut être quantifiée en mesurant les échanges entre le sédiment et l'eau surnageante. L'étude des flux en système fermé permet d'identifier dans quelle mesure les sédiments de mangrove échantillonnés consomment ou produisent les éléments analysés.

Tableau 13 : Flux d'ammonium à l'interface eau-sédiment dans les sédiments HT et ST n=2

	Flux NH_4^+ (nM.cm ⁻² .h ⁻¹)
Sédiments ST	-20,47
Sédiments HT	1,63

L'ammonium produit par la décomposition des composés azotés organiques dans les sédiments anoxiques peut s'accumuler dans l'eau interstitielle, être diffusé hors du sédiment vers la colonne d'eau ou être immobilisé dans les sédiments (Rosenfeld 1979).

Dans le cas de l'ammonium, un flux positif est observé entre le sédiments HT et la colonne d'eau. La grande production d'ammonium dans les sédiments ST devrait se traduire par un flux positif (flux sortant) du sédiment vers l'eau surnageante. Cependant c'est la tendance inverse qui est observée. Ce flux négatif peut être attribuée à une assimilation bactérienne rapide et efficace de l'ammonium à la surface des sédiments (Kristensen *et al.* 2000). Les mesures de flux de nutriments effectuées dans d'autres mangroves indiquent généralement une absorption des nutriments par les sédiments plutôt que leur libération (Middelburg *et al.* 1996b; Kristensen *et al.* 2000) ce qui est en accord avec les résultats obtenus pour l'ammonium dans les sédiments ST.

3.1.5 Interaction entre les cycles de N et de S.

Malgré la faible distance entre les sédiments présentant le tapis microbien et ce qui n'en présentent pas, les résultats obtenus suggèrent l'existence d'interactions complexes entre la qualité et la quantité de matière organique disponible, la présence du tapis microbien, les taux de minéralisation de l'azote et les taux de sulfato-réduction impactant ainsi les dynamiques inhérentes aux cycles biogéochimiques de S et N. En effet, la respiration hétérotrophe de la matière organique dans un environnement anoxique peut être réalisée à partir du sulfate et du nitrate qui agissent comme des accepteurs d'électrons. Les cycles de l'azote et du soufre interagissent et rentrent alors en compétition pour les formes labiles de carbone organique (bactéries réductrices de nitrate vs bactéries sulfato-réductrices) (Gu *et al.* 2012). L'activité des bactéries réductrices de sulfates peut par exemple être inhibée par celle des bactéries réductrices de nitrate (Jenneman *et al.* 1986; Greene *et al.* 2003).

Au cours des incubations en anaérobie, la minéralisation de substrats organiques labiles pour soutenir la dénitrification et la réduction du sulfate peut contribuer à la production d'ammonium suggérant un couplage entre la minéralisation de la matière organique et la réduction du sulfate (Jacinthe et Groffman 2006). La décomposition de la matière organique n'est donc pas le seul processus de formation d'ammonium dans les sédiments de mangrove. En effet même si la respiration du nitrate qui est considérée comme une voie microbienne mineure dans ce type de sédiment en raison des quantités limitées de nitrate dans les sédiments (Balk *et al.* 2015), elle peut jouer un rôle important dans la réponse de cet écosystème aux perturbations. En effet, les écosystèmes aquatiques comme les mangroves sont exposés à l'augmentation de la charge en éléments nutritifs solubles en particulier en nitrate (Schimel et Bennet 2004). Il est donc crucial de mieux comprendre les processus d'élimination des nitrates au niveau de microsites afin de mieux appréhender l'importance des processus couplant les cycles de l'azote et du soufre à l'échelle de l'écosystème. De plus, de par leur potentiel de stockage considérable pour le nitrate et le soufre élémentaire et grâce à leur capacité à être à la fois accepteur et donneur d'électrons, les *Beggiatoaceae* entrent efficacement en concurrence avec les autres voies microbiennes de l'oxydation des sulfures (Jørgensen 1977a; Jørgensen et Nelson 2004; Mußmann *et al.* 2007). Une description détaillée de la diversité bactérienne et de la structure de la communauté dans les sédiments étudiés permettrait d'améliorer notre compréhension de la fonctionnalité bactérienne et des interactions microbiennes observées dans cet écosystème (Pramanik *et al.* 2018).

3.2 Conclusion

Présents à proximité des palétuviers, les sédiments ST sont plus riches en matière organique et de granulométrie plus fine que les sédiments HT qui eux sont plus sableux et plus riches en composés carbonatés. Les sédiments sont principalement constitués de matière organique d'origine terrestre (plantes en C3 du genre *Rhizophora*) et marine (phytoplancton, algues...). Cependant les analyses réalisées ne permettent pas de conclure quant à la qualité, la quantité et la biodisponibilité du carbone organique présent dans les sédiments étudiés.

Les sédiments St et HT présentent des concentrations en nitrate et en nitrite faibles comprises entre 0 et 5 µM (conditions limitantes). Les très faibles concentrations d'azote inorganique dissout dans les eaux interstitielles reflètent le caractère réducteur du milieu limitant par conséquent les flux de nutriments provenant des sédiments. L'ammonium est la source principale d'azote inorganique des eaux interstitielles provenant des deux types de sédiments

avec des concentrations variant 97,8 à 163 μM dans les sédiments HT et de 123,2 à 1127 μM dans les sédiments ST. Les tendances suivies le long des profils suggèrent des différences dans les processus impliqués dans sa production et/ou sa consommation. En effet, alors que les concentrations en ammonium augmentent rapidement dans les sédiments ST, l'augmentation est plus modérée dans les sédiments HT. Une diminution des concentrations en sulfate est observée dans les sédiments ST de 26,7 à 10,9 mM et une production de sulfure a concomitamment lieu (de 3 μM à 7,3 μM). Dans les sédiments HT les concentrations en sulfate sont stables le long du profil et aucune concentration en sulfures n'a été détectée.

À la vue de l'hétérogénéité des paramètres structuraux des sédiments HT et ST, et des tendances suivies par les composés analysés qui traduisent des conditions spécifiques à chaque type de sédiments ; on s'attend donc à avoir des différences dans les variations de la dynamique biogéochimique de ces deux types de sédiments.

La décomposition de la matière organique via la minéralisation est un processus fondamental dans le recyclage et le piégeage des nutriments. Dans les sédiments anoxiques étudiés, la sulfato-réduction semble être le processus majoritaire de minéralisation de la matière organique mais la minéralisation de l'azote reste une voie possible à ne pas négliger.

Les taux de production d'ammonium obtenus par les deux méthodes dans les deux types de sédiments confirment que le processus de minéralisation est une source d'azote interne importante dans les sédiments étudiés et que les différences de taux de minéralisation entre les sédiments ST et HT observées d'une année à l'autre sur la même période sont vraisemblablement dues aux différences de qualité et quantité de matière organique. En effet, les tendances suivies pour la minéralisation sont les mêmes pour les deux méthodes mais les taux sont eux variables même s'ils restent dans le même ordre de grandeur. Dans les deux types de sédiments la production d'ammonium durant les incubations en anaérobie peut être induite par le processus de DNRA ou par les processus de dénitrification sulfureuse.

Les taux de minéralisation de l'azote et de sulfato-réduction sont plus élevés dans les sédiments ST que dans les sédiments HT. De plus même si ces deux processus impliqués dans la minéralisation de la matière organique sont variables au cours du temps ils restent du même ordre de grandeurs au cours des périodes étudiées

4 Caractérisation des processus d'élimination du nitrate et influence du tapis microbien dans les sédiments de la Manche-à-Eau

Malgré la faible distance entre les sédiments sous tapis microbien (ST) et les sédiments hors tapis microbien (HT), les résultats obtenus dans le chapitre précédent mettent en lumière une différence de réactivité entre ces deux types de sédiments notamment pour la minéralisation de la matière organique. Les sédiments de mangrove se distinguent par leur salinité, la faible disponibilité d'oxygène, leur caractère réducteur et leur faible contenu en nutriments qui conduit à une forte compétition entre les micro-organismes en particulier pour les composés azotés (Luvizotto *et al.* 2018). Dans ces écosystèmes côtiers peu profonds, les sources principales d'azote sont celles des dépôts atmosphériques, des fertilisants, des eaux usées, des eaux provenant du ruissellement, mais aussi l'azote ayant une origine marine introduit par les mouvements de marées et l'azote provenant de la végétation, de la faune et des sédiments (Purvaja *et al.* 2008; Reis *et al.* 2017b). Dans les mangroves, l'azote sous forme organique est prédominant et les concentrations des formes inorganiques sont faibles en particulier pour le nitrate et le nitrite dont les concentrations sont faibles comparées à celles d'autres sédiments marins (Purvaja *et al.* 2008). Dans les sédiments de mangrove l'ammonium est la source d'azote la plus abondante alors que le nitrate et le nitrite sont détectables à de faibles concentrations (Purvaja *et al.* 2008; Ray *et al.* 2014). Les premiers résultats obtenus dans le cadre de cette thèse confirment ces tendances.

Les micro-organismes étant le moteur des réactions du cycle biogéochimique de l'azote, les paramètres environnementaux qui affectent leur activité comme la disponibilité des nutriments, ou encore les caractéristiques des sédimentaires vont par conséquent conditionner les processus métaboliques en présence et leur taux de réaction (Lee et Joye 2006; Giblin *et al.* 2013).

Compte tenu des conditions existantes en mangrove (anoxie dès les premiers millimètres, milieu réducteur), la minéralisation, l'oxydation de l'ammonium en anaérobie (anammox), la dénitrification et la réduction dissimilative du nitrate en ammonium (DNRA) peuvent jouer un rôle important dans le contrôle des dynamiques liées aux nitrates provenant de la colonne d'eau (Deng *et al.* 2015; Luvizotto *et al.* 2018) et plus globalement sur le devenir des composés azotés dans les environnements côtiers (Burdige 2012).

Ces processus qui peuvent s'opérer en même temps au sein des sédiments de mangroves (Fernandes *et al.* 2010; Fernandes et Loka Bharathi 2011; Fernandes *et al.* 2012a; Fernandes *et al.* 2012b; Balk *et al.* 2015; Luvizotto *et al.* 2018) n'ont pas les mêmes conséquences sur le cycle de l'azote. Tandis que la dénitrification va éliminer le nitrate du milieu en le convertissant en N₂ (et N₂O) (Strous *et al.* 1999; Strous *et al.* 2002), la DNRA et la minéralisation de l'azote vont consommer cet élément via la production d'ammonium (Tiedje 1988). La principale difficulté de caractériser ces processus antagonistes réside dans le fait que certaines molécules comme le nitrite (NO₂⁻), le nitrate (NO₃⁻) et l'ammonium (NH₄⁺) peuvent aussi bien être des produits ou des substrats des réactions élémentaires.

Certains facteurs environnementaux qui déterminent la balance entre la DNRA, la dénitrification et l'anammox dans les systèmes aquatiques ne sont pas complètement compris (Lee et Joye 2006; Giblin *et al.* 2013). Dans les sédiments de mangrove, la dénitrification est fortement influencée par les quantités de nitrate, l'immobilisation de l'azote par la communauté bactérienne présente et la disponibilité en carbone organique (Reis *et al.* 2017b; Schutte *et al.* 2019). Les faibles concentrations en nitrate dans les sédiments de mangrove peuvent expliquer la faible part de la dénitrification au profit de processus de recyclage et de conservation de l'azote plus favorables au milieu tel que la DNRA (Fernandes *et al.* 2012a). La DNRA est réalisée à la fois par les organismes hétérotrophes, qui utilisent le carbone organique comme donneur d'électron(s) (DNRA fermentative) et par les organismes chimiolithoautotrophes qui utilisent le nitrate pour oxyder les sulfures ou d'autres substrats inorganiques réduits (Giblin *et al.* 2013). La DNRA fermentative est un processus qui se déroule en anoxie. Elle est favorisée dans les milieux réducteurs riches en carbone labile et ayant des quantités de nitrate limitées (Burgin et Hamilton 2007; Thamdrup 2012; Giblin *et al.* 2013; Pandey *et al.* 2020). La DNRA chimiolithoautotrophe couple la réduction du nitrate en ammonium avec l'oxydation des formes réduites du soufre (H₂S, S²⁻, S⁰). La concentration en sulfures libres influence le type de réduction de nitrate (Pandey *et al.* 2020). À des concentrations extrêmement faibles en sulfures libres, le nitrate est réduit par dénitrification alors qu'à des concentrations plus élevées la DNRA et la dénitrification incomplète prédominent (Brunet et Garcia-Gil 1996; Mazéas *et al.* 2008). Selon les résultats de Brunet *et al.* (1996), une milimole par litre de sulfure inhibe l'activité de la NO et N₂O réductase. Dans les sédiments étudiés, les concentrations en sulfure atteignent 7,3mM, ce qui est en faveur de la prédominance du processus de DNRA. Dans les marais et les mangroves, les taux maximums de DNRA apparaissent dans les zones où la matière organique labile est riche. Dans certains sédiments de mangrove la réduction du nitrate

se fait préférentiellement par le processus de DNRA au détriment des processus d'anammox et de dénitrification hétérotrophe (Burgin et Hamilton 2007; Giblin *et al.* 2013). Le processus d'anammox semble être stimulé dans les environnements pauvres en oxygène et limités en substrat organique et inhibé par les sulfures même à faibles concentrations (Kraft *et al.* 2011; Thamdrup 2012; Rios-Del Toro et Cervantes 2019). De surcroît des concentrations significatives en sulfures peuvent inhiber la dénitrification et conduire le nitrate à être transformé en ammonium favorisant ainsi le processus de DNRA (Fossing *et al.* 1995; An et Gardner 2002; Sayama *et al.* 2005; Mazéas *et al.* 2008). Dans les sédiments étudiés, le processus d'anammox est peu envisageable du fait des fortes quantités de matière organique et on s'attend donc à avoir une prédominance de la DNRA vis-à-vis de la dénitrification au vue du fort contenu en sulfures des eaux interstitielle des sédiments ST qui sont de l'ordre du milimolaire.

Comme précisé dans la section 1.2.2.1.2.1, les *Beggiatoaceae* qui constituent majoritairement le tapis microbien ont des voies métaboliques d'utilisation du nitrate comme accepteur final d'électron qui ne sont pas clairement identifiées (Jørgensen et Nelson 2004; Sayama *et al.* 2005). Il a été démontré que certaines espèces de *Beggiatoaceae* peuvent conserver en conditions anaérobies leur énergie en couplant l'oxydation des sulfures avec la réduction des nitrates en diazote ou en ammonium (Sweerts *et al.* 1990; Mußmann *et al.* 2003; Kamp *et al.* 2006; Teske et Nelson 2006; Winkel *et al.* 2014; Teske *et al.* 2016). En effet, certaines espèces semblent être capables de réduire le nitrate en ammonium suivant le mécanisme de DNRA alors que d'autres produiraient du diazote via la dénitrification (Jørgensen et Nelson 2004; Burgin et Hamilton 2008). Le tapis est principalement constitué de *Beggiatoaceae*, ces bactéries étant susceptibles d'utiliser le nitrate pour oxyder les sulfures en l'absence d'oxygène ainsi, on s'attend à des taux de réduction du nitrate plus importants dans les réacteurs contenant les sédiments qui ont fait l'objet d'un ajout de tapis.

Dans un premier temps pour rendre compte de potentielles différences dans les cinétiques d'élimination du nitrate des sédiments ST et HT, les taux de réduction du nitrate et les taux de production d'ammonium et de nitrite ont été mesurés. Ces taux ont été obtenus après incubation des deux types de sédiments conditions contrôlées à l'aide de réacteur à flux continu soumis à des concentrations en nitrate de 500 μM et 5000 μM en anaérobie. Dans les conditions naturelles, les sédiments sont limités en nitrate, l'ajout de substrat devrait booster l'activité microbienne et impacter les taux de réduction de nitrate.

Dans un second temps, pour mettre en exergue le rôle du tapis microbien dans la réduction du nitrate, des incubations ont été réalisées à partir des sédiments ST avec et sans ajout de tapis microbien. Ces expérimentations complémentaires ont été menées, dans les mêmes conditions qu'évoquer précédemment, mais en faisant varier la quantité d'azote nitrique (100, 200, 500 et 5000 μM) afin de déterminer les taux de réduction maximum.

Plusieurs questions se sont posées : Quels sont les taux de réduction du nitrate ? Y a-t-il des variations spatiales et dans le temps des taux de réduction ? Quelle est l'influence du tapis microbien sur les taux potentiels de réduction ? La réduction étant avérée, quels sont les processus en présence ?

Dans le but de mieux comprendre l'occurrence des processus de réduction, pour chaque expérimentation, les concentrations de nitrate résiduel ainsi que les concentrations de NH_4^+ et NO_2^- produites ont été déterminées. Afin d'appréhender la part de la dénitrification, la production de N_2O a été mesurée pour une des expérimentations. Pour la DNRA, afin de confirmer la présence de ce processus, un traçage isotopique a été réalisé à l'aide de nitrate enrichi.

Ainsi, ce chapitre a pour objectif d'apporter des éléments de réponse concernant l'influence de la disponibilité du nitrate sur ces processus d'élimination, mais aussi sur la formation des produits réactionnels dans les sédiments ST et HT afin d'appréhender l'influence du tapis microbien sur le cycle de l'azote et d'explorer les voies dominantes du processus de réduction de NO_3^- .

4.1 Résultats et discussion

4.1.1 Taux de réduction de nitrate ST et HT

Pour tous les traitements réalisés (500 μM et 5000 μM de NO_3^- dans les solutions nourrices), les concentrations en nitrate en sortie de réacteur sont inférieures à celles des solutions d'entrée pour les sédiments ST et HT (Figure 37). Cette diminution indique l'existence de processus de réduction du nitrate dans les deux types de sédiment.

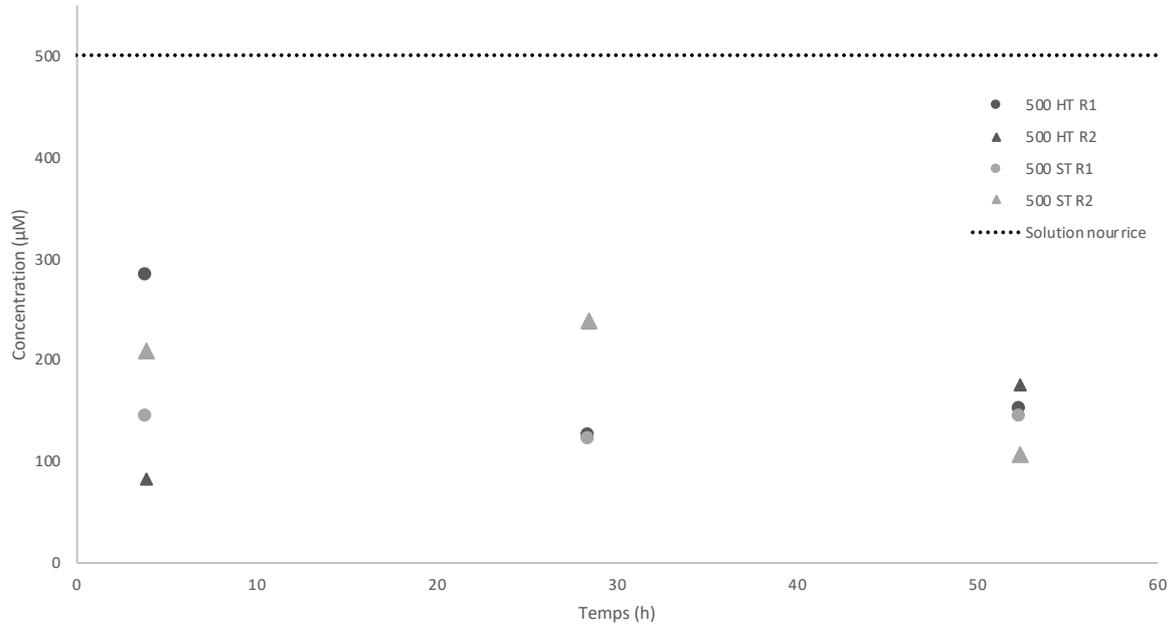


Figure 37 : Évolution des concentrations en nitrate dans les sorties de réacteurs pour les répliques 1 (R1) et 2 (R2) des réacteurs contenant des sédiments hors tapis microbien (HT) et sous tapis microbien (ST) soumis à une solution nourrice de 500 µM de nitrate.

Pour tous les traitements réalisés, tous les réacteurs ont montré une production d'ammonium et de nitrite aussi bien pour les sédiments ST que les sédiments HT (Figure 38).

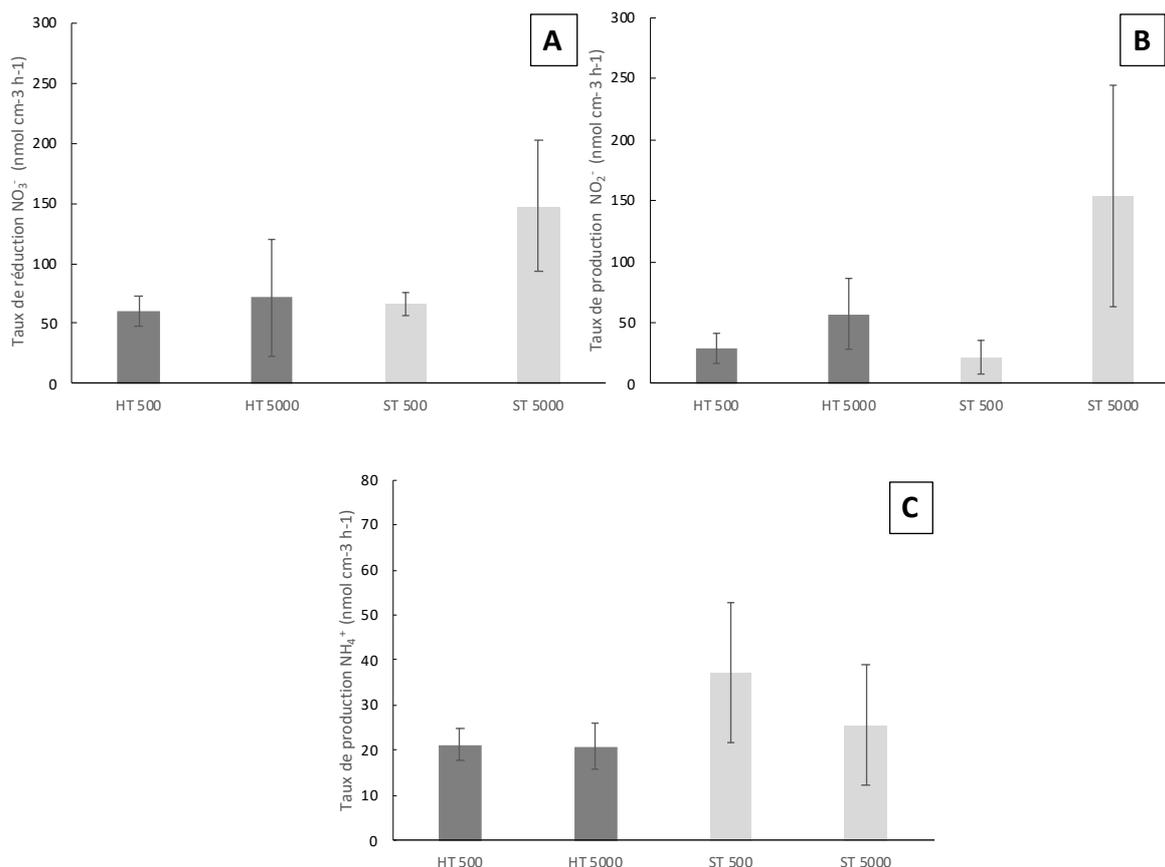


Figure 38 : Taux de production ou de réduction mesurés suite à l'incubation des sédiments non triés sous tapis microbien (ST) et hors tapis microbien (HT) en réacteur à flux continu et soumis à deux concentrations de nitrate (500 et 5000 μM). A Réduction NO₃⁻ B Production NO₂⁻ C Production NH₄⁺. Les barres d'erreur indiquent les écart-types.

Pour le traitement à 500 μM en nitrate, les taux de réduction des sédiments ST et HT sont du même ordre de grandeur soit 65,9 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ dans les sédiments ST et 60,7 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ dans les sédiments HT. Pour le traitement à 5000 μM , les taux de réduction augmentent soit 147,8 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ dans les sédiments ST et 71,8 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ dans les sédiments HT. Ainsi en augmentant les concentrations en nitrate dans la solution nourrice, une augmentation des taux de réduction est avérée. De plus, quelle que soit la concentration en nitrate des solutions nourrice, les taux de réduction obtenus sont plus importants dans les sédiments ST que dans les sédiments HT.

Dans les deux types de sédiments, la réduction du nitrate est associée à une production significative de nitrite. Cette quantité de nitrite produite augmente avec l'augmentation des concentrations en nitrate dans la nourrice aussi bien dans les sédiments ST que dans les sédiments HT. A 500 μM , la production de nitrite est plus élevée dans les sédiments HT que dans les sédiments ST soit des taux respectifs de 28,8 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ et de 21,6 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$.

Pour le traitement à 5000 μM , la tendance inverse est observée à savoir des taux de production de nitrite plus importants dans les sédiments ST que dans les sédiments HT. Ainsi dans la production de nitrite est de 154,1 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ dans les sédiments ST et de 57,2 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ dans les sédiments HT.

En ce qui concerne la production d'ammonium, cette dernière ne semble pas être influencée par les teneurs en nitrate fournies dans les sédiments HT (21,3 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ à 500 μM et 20,9 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ à 5000 μM). Les taux mesurés dans les sédiments ST à faible concentration sont plus élevés que ceux obtenus à 5000 μM de nitrate (25,6 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ contre 37,3 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$).

De plus, les expériences de minéralisation en batch menées dans le chapitre précédent ont montré que pour les profondeurs comprises entre 0 et 6 cm, la production d'ammonium par minéralisation était plus forte dans les sédiments HT que dans les sédiments ST soit respectivement 104,0 $\text{nM}_{\text{N-NH}_4^+}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ et 98,9 $\text{nM}_{\text{N-NH}_4^+}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

L'inversion de cette tendance avec l'apport d'azote nitrique dans les sédiments met en lumière le fait que la production d'ammonium ne peut pas être exclusivement due au processus de minéralisation de la matière organique en particulier dans les sédiments ST. En effet, l'apport de nitrate semble avoir stimuler la production d'ammonium dans les sédiments ST. Ainsi, l'existence d'une autre voie de production d'ammonium est donc à envisager. Même si les taux de production d'ammonium sont moins importants aux fortes concentrations en nitrates fournies par la solution nourrice, l'augmentation concomitante de la concentration en NH_4^+ avec la réduction du NO_3^- en conditions réductrices et en anoxie semble indiquer l'occurrence de la DNRA.

Les premiers résultats de cette expérimentation indiquent donc que le tapis microbien semble jouer un rôle dans la transformation du nitrate. Il convient alors d'étudier l'influence de ce tapis sur les processus mis en jeu au sein du sédiment.

4.1.2 Influence du tapis microbien sur la réduction du nitrate

L'élimination du nitrate dans les sédiments peut être influencée par divers paramètres (section 1.1.2.4 en particulier dans la Figure 10). Par exemple, dans les mangroves, les taux maximum de DNRA ont lieu dans les zones riches en matière organique et préférentiellement aux faibles concentrations en nitrate (Burgin et Hamilton 2007; Kraft *et al.* 2011; Yang *et al.* 2012; Balk *et al.* 2015). Au vu des concentrations en ammonium détectées en sortie de réacteur pour les

faibles teneurs en nitrate testées, on pourrait faire l'hypothèse qu'une partie de la réduction du nitrate soit due au processus de DNRA et que ce dernier est plus important dans les sédiments ST plus riches en matière organique.

L'objet de cette partie est d'entrevoir l'influence du tapis microbien et des variations concentrations en nitrate sur les processus d'élimination.

4.1.2.1 Caractéristiques des matrices incubées

Afin de s'assurer de la possibilité de comparer les expériences entre elles, les contenus en azote et en carbone des matrices incubées ont été mesurés. Les résultats de l'analyse élémentaire réalisée avant incubation sur les matrices insérées dans les réacteurs et les caractéristiques du tapis microbien sont présentés dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Caractéristiques des matrices incubées lors des expériences en réacteurs à flux continu avant incubation et caractéristiques du tapis microbien seul

	Expériences	%N	%C	C/N (atome/atome)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
Sédiments sous tapis microbien	14/06/2017	0,9	14,7	19,3	3,5	-22,9
+ Tapis microbien	12/07/2017	0,8	16,5	23,3	3,7	-22,9
Sédiments sous tapis microbien	20/09/2017	1,1	24,4	27,0	2,8	-21,6
Tapis microbien	14/06/2017	1,2	8,6	8,7	2,6	-26,5
	12/07/2017	1,1	8,7	9,3	2,9	-27,6

Les quantités d'azote contenues dans les sédiments sont relativement stables d'une expérience à l'autre et varient de 0,8 à 1,1%. Le pourcentage d'azote contenu dans le tapis microbien est lui aussi constant d'une expérience à l'autre avec des valeurs de 1,1% pour l'expérience au nitrate marqué contre 1,2% dans l'expérience au nitrate sans marquage. Pour le tapis microbien, les autres paramètres analysés mettent en lumière la similarité des caractéristiques des deux aliquots utilisés. Les $\delta^{15}\text{N}$ varient de 2,8 à 3,5 ‰ pour les sédiments incubés. Les matrices de juin et juillet ont des $\delta^{15}\text{N}$ plus élevés que le $\delta^{15}\text{N}$ obtenu dans les sédiments de l'expérience réalisée en septembre qui est plus proches des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ du tapis microbien.

Les sédiments utilisés dans l'expérience de septembre 2017 présentent des teneurs en carbone organique plus élevées que celles des deux autres expériences. Ces teneurs sont respectivement de 16,5% et 14,7% pour les expériences de juillet et juin 2017 contre 24,4% dans l'expérience

réalisée en septembre. Ces différences notables dans le contenu en carbone induisent de faibles variations du ratio C/N. Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ (Tableau 14) varient très peu d'une expérience à l'autre et sont légèrement inférieures à celles obtenues par Gontharet *et al.* (2016) et Crémère *et al.* (2017) qui étaient comprises entre -26,4 et -24,4 ‰.

Concernant le tapis microbien, les *Beggiatoaceae* issues du tapis ont fait l'objet de caractérisation du $\delta^{13}\text{C}$ pour lesquelles les valeurs de -31,7 ‰ (Pascal *et al.* 2014) et -31 ‰ (Sébilo communication personnelle) avaient été mesurées précédemment. Des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ variant de -35 à -22,9 ‰ et des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ allant de -6,8 à 5,1 ‰ avaient été mesurées pour des *Beggiatoaceae* prélevées au niveau du suintement océanique dans le Golf du Mexique (Demopoulos *et al.* 2010). Dans le cas des expériences menées dans ce chapitre, un tri avait été réalisé mais il ne s'agit pas exclusivement de filaments de *Beggiatoaceae* d'où de possibles variations avec la bibliographie et les résultats plus élevés obtenus ici. Quoiqu'il en soit, ces résultats indiquent que le tapis est principalement composé d'organismes chimio-autotrophes (Demopoulos *et al.* 2010). De plus, la dégradation du tapis microbien peut être une source complémentaire de carbone. Ainsi cette biomasse morte en fournissant aux sédiments ST une source complémentaire de carbone peut favoriser les processus de réductions du nitrate (Laverman *et al.* 2021).

L'analyse d'ensemble de ces éléments montre que les caractéristiques des sédiments et du tapis microbien sont similaires d'une expérience à une autre ce qui permet la comparaison entre les taux potentiels obtenus dans la suite du chapitre.

4.1.2.2 Taux de réduction du nitrate

L'influence de l'addition de nitrate sur leur taux de réduction potentiels et paramètres cinétiques a été testée sur les sédiments ST. Comme présenté dans la Figure 39, les taux de réduction potentiels du nitrate varient en fonction des concentrations de nitrate fournies au travers de la solution nourrice. Pour les quatre expériences les taux de réduction du nitrate augmentent avec l'augmentation des concentrations dans la solution nourrice.

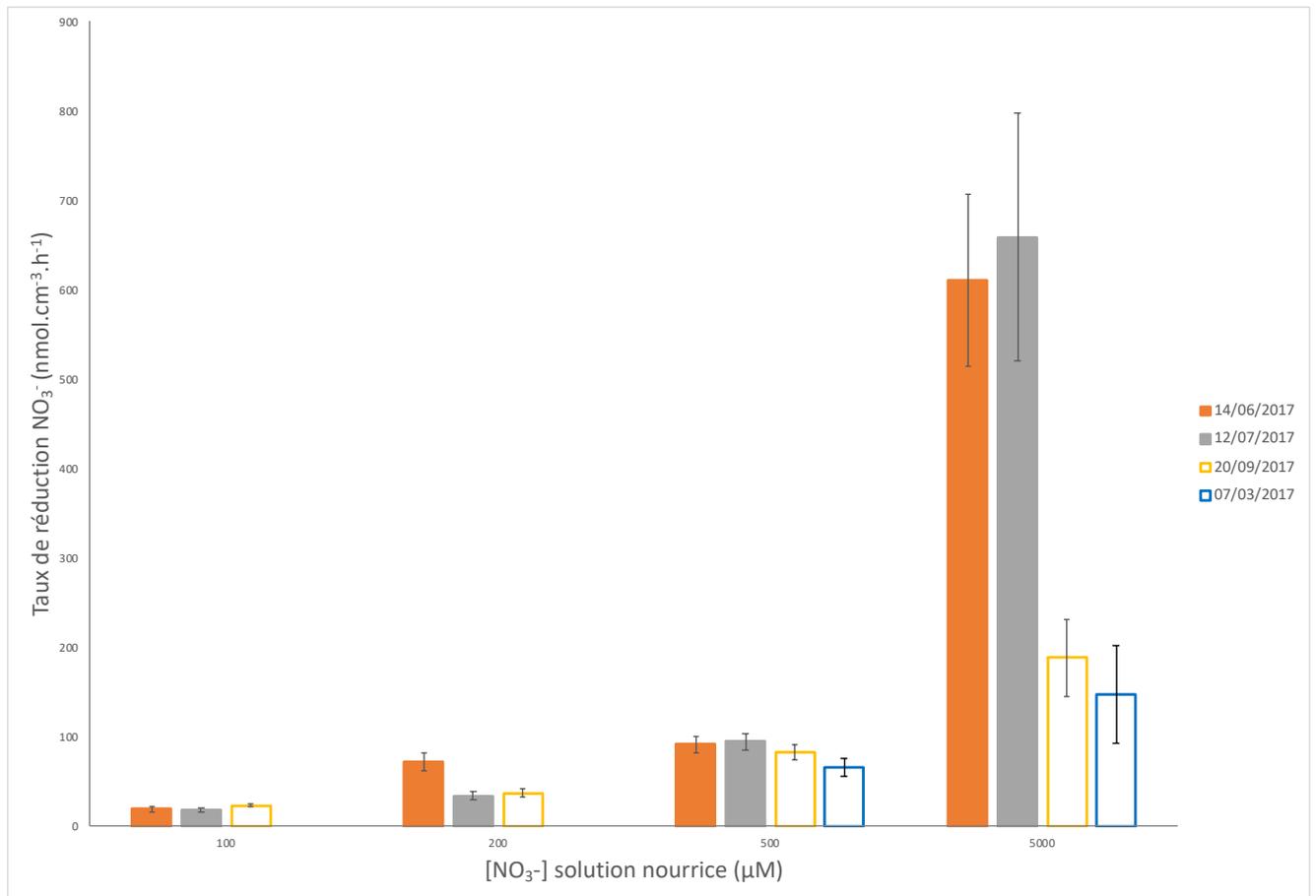


Figure 39 : Taux de réduction du nitrate en fonction des concentrations en nitrate pour les différentes expériences. Les histogrammes pleins correspondent aux expériences pour lesquelles le sédiment a été incubé avec du tapis microbien alors que les vides correspondent aux réacteurs où seul le sédiment ST a été incubé.

Même si en l'absence de sédiments témoins (sédiment stérilisé) les processus abiotiques ne sont pas à exclure ; les populations microbiennes réductrices de nitrates présentes dans les réacteurs semblent s'adapter aux variations de la disponibilité du substrat. En effet, dans les sédiments estuariens limités en nitrate, les communautés réductrices de nitrate adaptent leur niveau d'activité en fonction de la disponibilité en nitrate (King et Nedwell 1985; Laverman *et al.* 2007; Fernandes et Loka Bharathi 2011).

Les taux de réduction obtenus en mars et en septembre 2017 dans les sédiments ST sans tapis microbien trié sont plus faibles que ceux obtenus en présence du tapis trié pour les traitements à 500 et 5000 μM et du même ordre de grandeur pour les traitements à 100 et 200 μM (Tableau 15). Au vu de l'augmentation des taux de réduction entre les deux types d'incubation et ce en particulier aux concentrations élevées ; ces résultats suggèrent que dans les conditions étudiées, la présence du tapis microbien influence la réduction du nitrate.

Tableau 15 Moyenne des taux de réduction de nitrate (NRR) en fonction des différentes concentrations de nitrate fournies par la solution nourrice au sédiment pour chaque réacteur.

Matrices incubées	Dates	Concentration de la solution nourrice	Taux de réduction du nitrate (NRR)	
		(μM)	($\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$)	Écart-type
Sédiments ST	07/03/2017	509,5	65,9	10,1
		4669,3	147,8	54,6
Sédiments ST+Tapis	14/06/2017	92,6	19,4	2,6
		347,6	71,8	9,8
		464,9	91,6	8,8
		4623,8	610,9	96,1
Sédiments ST+Tapis	12/07/2017	99,6	18,4	2,1
		196,5	34,6	4,1
		496,5	94,7	9,1
		5714,3	658,3	138,4
Sédiments ST	20/09/2017	125,5	23,8	2,2
		205,2	37,2	4,7
		464,2	82,3	8,4
		4561,7	188,9	42,9

Pour le traitement à $100 \mu\text{M}$ en nitrate dans la solution nourrice, quelles que soient les matrices incubées, les taux mesurés sont tous du même ordre de grandeur. Cette proximité dans les taux peut être expliquée par le fait que la quasi-totalité du nitrate a été consommé au cours de ces incubations. Pour les solutions nourrices de concentrations en nitrate plus élevées, des différences dans les taux de réductions sont notables pour les divers traitements. A $5000 \mu\text{M}$, les taux de réduction dans les réacteurs contenant des sédiments et le tapis microbien sont de $610,9$ et $658,3 \text{ nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$. A cette même concentration, les taux de réduction du nitrate étaient de $188,9 \text{ nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$ pour le mois de septembre et de $147,7$ en mars 2017 pour les sédiments ST. Les taux potentiels de réduction obtenus en présence du tapis microbien sont aussi supérieurs aux taux de réduction de nitrate de $479 \text{ nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$ obtenus par Balk et al. (2015) sur des sédiments de mangrove marine de Floride après que ces derniers aient été soumis à une concentration de $4000 \mu\text{M}$ en nitrate par le biais de réacteurs à flux continu. Ce qui est un argument supplémentaire en faveur de la stimulation du processus de réduction du nitrate par le tapis microbien. Cependant, dans des conditions d'oxygène réduit, l'ajout d'azote ne s'accompagne pas forcément d'un changement lié à la respiration microbienne, ce qui

s'explique par des diminutions de la biomasse microbienne (Keuskamp *et al.* 2015; Bulseco *et al.* 2019b; Craig *et al.* 2021), de l'abondance bactérienne (Luo *et al.* 2017), et de la diversité bactérienne (Aoyagi *et al.* 2015). La dégradation de la communauté bactérienne avec l'ajout de nitrate (sans apport de carbone extérieur) suggère que la réduction du nitrate peut faciliter la décomposition des composés complexes de la matière organique influençant ainsi à long terme le stockage du carbone (Bulseco *et al.* 2019a).

4.1.2.3 Influence du traitement sur les taux de réduction du nitrate

Les expérimentations de détermination des taux de réduction de nitrate en réacteurs à flux continu ont été réalisées à des dates différentes et selon des traitements différents. Pour vérifier si les différents traitements effectués impactent le processus de réduction du nitrate au sein des sédiments étudiés, les valeurs obtenues pour les différents traitements ont statistiquement été comparées via une one-way ANOVA réalisée sur R (R Core Team). Les résultats des tests sont considérés comme significatifs pour une valeur de p inférieure à 0,05. Avec des valeurs de p comprises entre 0,79 et 0,99 les traitements réalisés ne présentent pas de différences significatives. Ainsi même si les sédiments n'ont pas subits les même traitements, les résultats obtenus au cours des expériences en réacteur à flux continu peuvent donc être comparés entre eux dans la suite du chapitre.

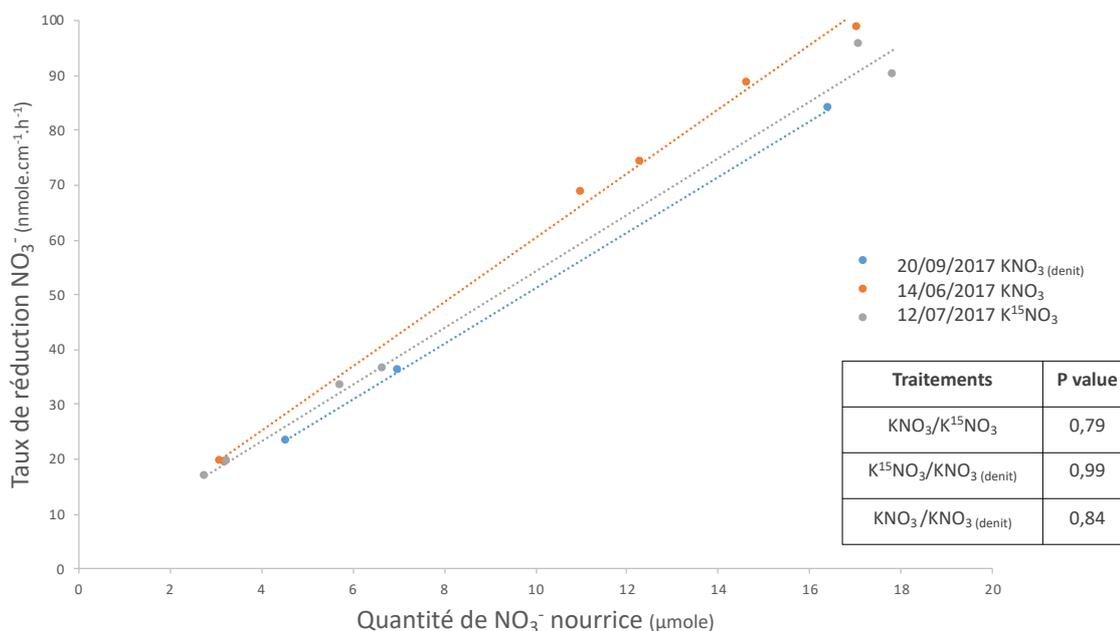


Figure 40 : Évolution des taux de réduction de nitrate en fonction des quantités de nitrate introduites dans la solution nourrice calculées à partir des débits, des pas de temps et des concentrations des solutions nourrices pour les traitements de juin, juillet et septembre 2017 et pvalue associées.

4.1.2.3.1 Paramètres cinétiques

Les processus microbiens présentent généralement un comportement de saturation en ce qui concerne les substrats que les organismes extraient de leur environnement. C'est-à-dire qu'avec une concentration croissante d'un substrat limitant, le taux atteint finalement une valeur maximale. Ce comportement est représenté par l'expression du taux de Michaelis-Menten qui est couramment utilisée pour représenter les voies de réaction microbienne dans les modèles de transport réactif biogéochimique (Regnier *et al.* 2005). L'équation de Michaelis-Menten permet ainsi de caractériser la cinétique de réduction du nitrate dans les sédiments qui ont été soumis à des quantités variables de substrat. Cette équation permet de déterminer les taux maximaux de réduction potentielle R_{max} et les concentrations de demi-saturation (K_m) à partir des taux de réduction de nitrate mesurés à l'état d'équilibre au cours du temps. La méthode de détermination de ces paramètres cinétiques est décrite dans la partie matériels et méthodes.

Les valeurs de R_{max} obtenues dans les expériences de réacteurs à flux continus correspondent à l'activité maximale de réduction des nitrates que les populations microbiennes du sédiment peuvent éliminer compte tenu de la disponibilité et de l'abondance du donneur d'électron (Laverman *et al.* 2006).

Dans le cadre de cette étude, les taux correspondent donc à l'activité éliminatrice de nitrate quand les quantités de nitrate sont non limitantes et lorsque ce dernier est le seul accepteur d'électron disponible. Les paramètres obtenus dans le cadre des incubations de juin, juillet et septembre sont présentés dans le Tableau 16. Les données de mars n'ont pas été traitées car seules deux concentrations différentes ont été fournies aux réacteurs.

Tableau 16 : Taux potentiels de réduction max du nitrate à l'équilibre (R_{max}) et les concentrations de demi-saturation (K_m) obtenus par l'expression de Michaelis-Menten à partir des taux obtenus expérimentalement.

Date	Matrices incubées	R_{max} (nmol.cm ⁻³ .h ⁻¹)	K_m (μ M)
14/06/2017	Sédiments ST+Tapis	1625,6	7679,5
12/07/2017		1566,3	7880,1
20/09/2017	Sédiments ST	227,2	906,3

Les R_{max} diffèrent d'une expérience à une autre et varient entre 227,2 et 1625,6 nmol.cm⁻³.h⁻¹ pour des valeurs de K_m qui elles varient de 906,3 à 7880,1 μ M. Les différences de R_{max} obtenues entre les deux expériences impliquant le sédiment ST recouvert de tapis microbien

peuvent être expliquées par l'absence de connaissances sur la composition précise du tapis. Le tapis est principalement composé de *Beggiatoaceae* mais sa composition est variable au cours du temps et on peut le considérer comme une boîte noire. Le R_{\max} obtenu dans les sédiments ST sans tapis est du même ordre de grandeur (fourchette haute) que ceux obtenus dans les sédiments côtiers de l'étude menée en 2006 par Laverman et ses collaborateurs. Néanmoins, les taux potentiels maximum de réduction obtenus en présence de tapis microbien sont nettement supérieurs à la valeur obtenue dans le cadre de l'incubation de sédiments seuls de septembre et aux valeurs de R_{\max} obtenues au niveau des stations du Canal des Rotours (section 5.3.2.2) pour lesquelles les R_{\max} variaient entre 185,4 et 471,8 $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$. Ces résultats confortent ainsi l'hypothèse selon laquelle le tapis microbien boosterait l'activité éliminatrice de nitrate.

Pour les trois expériences les valeurs de K_m déterminées sont toutes supérieures aux concentrations de nitrate mesurées dans la colonne d'eau, ce qui signifie que les taux de réduction de nitrate sur site sont limités par la disponibilité du nitrate *in situ*. Par conséquent, l'activité de réduction du nitrate sera très sensible aux variations de la concentration de nitrate dans les eaux sus-jacentes. De plus les valeurs K_m apportent des informations sur l'affinité entre la communauté bactérienne présente dans le sédiment et le nitrate (Pallud *et al.* 2007). Les hautes valeurs de K_m obtenues en présence du tapis indiquent que la communauté bactérienne qui le compose a une forte affinité avec le nitrate.

Pris ensemble les résultats indiquent qu'en dépit des faibles quantités de nitrate disponibles dans le milieu, les sédiments associés aux tapis ont un meilleur potentiel d'élimination du nitrate que les sédiments seuls. La différence entre le R_{\max} et les taux obtenus peut être due aux quantités insuffisantes *in situ* de carbone organique labile nécessaire pour soutenir l'activité d'élimination du nitrate.

4.1.2.3.2 Pourcentage d'élimination

La quantité d'azote éliminée dans une zone humide est appelée efficacité, il s'agit du rapport entre la quantité d'azote éliminée par zone humide et l'apport d'azote dans la même zone (Rao *et al.* 2019). L'efficacité de l'élimination du nitrate en fonction des différentes concentrations appliquées aux sédiments au cours des trois expériences est présentée dans la Figure 41.

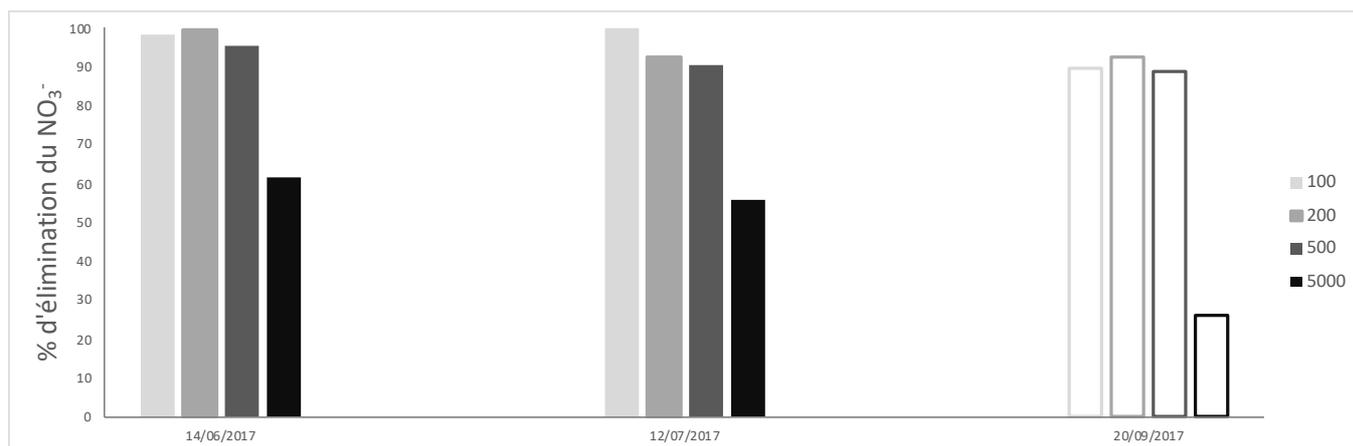


Figure 41 : Pourcentage d'élimination du nitrate en fonction des concentrations en nitrate de la solution nourrice (de 100 à 5000 µM) en fonction des différentes expériences Histogrammes pleins = sédiments + tapis. Histogramme vide = sédiment seul

Sur cette figure on observe qu'à la plus faible concentration de nitrate dans la solution nourrice la totalité du nitrate est réduit pour les sédiments incubés avec le tapis microbien (100%). Dans l'expérience avec les sédiments seuls, ce pourcentage est de 89,7 confirmant ainsi le rôle du tapis sur la dynamique de réduction de l'azote. Pour les trois expériences, la réduction du nitrate est moins efficace à la plus forte concentration avec des valeurs de 61,7 % et 55,97 % pour les incubations ST avec le tapis et de 26,3 % pour les sédiments ST seuls. Contrairement aux taux de réduction du nitrate qui augmentent avec les concentrations en nitrate, l'efficacité de l'élimination du nitrate diminue avec l'augmentation des quantités de nitrate fournies par la solution nourrice.

Pour les solutions nourrices de concentrations en nitrate de 100, 200 et 500 µM, l'efficacité d'élimination du nitrate des sédiments ST associés au tapis est sensiblement égale à celle des sédiments qui n'ont pas fait l'objet d'un ajout de tapis. Ainsi, l'élimination du nitrate peut être qualifiée d'efficace pour les apports en nitrate inférieurs à 500 µM.

4.1.3 Effet de l'addition de nitrate sur les taux de production du nitrite et de l'ammonium : indication sur les voies d'élimination du nitrate

Le tapis microbien semble impacter la diminution des concentrations en nitrate, substrat de la réaction. Cette partie vise à déterminer le devenir de l'azote réduit en milieu réducteur avec le nitrate comme seule source d'azote au milieu. Du nitrite et de l'ammonium ont été produits dans l'ensemble des réacteurs en proportion différentes en fonction des concentrations de nitrate fournies par les solutions nourrices. La Figure 42 présente les taux de production du

nitrite et d'ammonium en fonction des concentrations de nitrate fournies par les solutions nourrices.

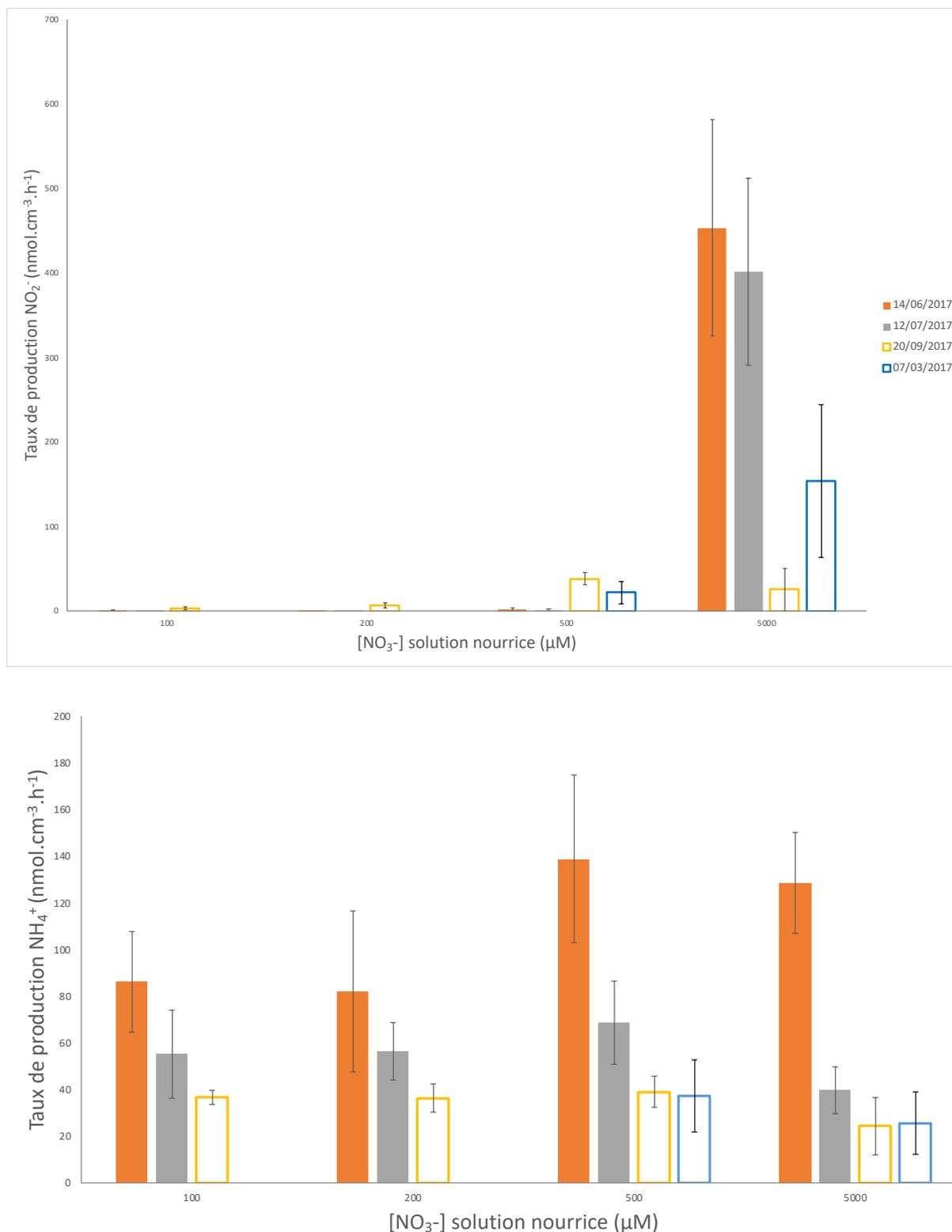


Figure 42 : Taux de production de nitrite et d'ammonium moyen en fonction des concentrations pour les différentes expériences. Histogramme plein = réacteurs incubés du mélange sédiment tapis. Histogramme vide = réacteurs de sédiments seuls

Pour les sédiments incubés avec le tapis microbien pour les solutions nourrices de concentrations comprises entre 100 et 497 μM , les taux de production de nitrite sont faibles et oscillent entre 0,1 et 1,5 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$. Dans les sédiments sans tapis, les taux de production de nitrites atteignent 38 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ pour l'expérience avec la solution nourrice à 464 μM en nitrate. Les taux varient d'une expérience à l'autre mais plus la concentration en nitrate de la solution nourrice augmente plus la production de nitrite augmente (Figure 42). Cette observation laisse supposer qu'à faible concentration en nitrate, le nitrite produit est immédiatement réduit par les micro-organismes présents. Alors qu'à la plus forte concentration en nitrate les taux de production nette en nitrite dépassent 400 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ dans les sédiments avec tapis, la production dans les sédiments ST qui n'ont pas fait l'objet de tapis y est fois 7 inférieure. Le tapis microbien impacte donc la production du nitrite.

De l'ammonium est produit dès le début de l'expérience. Cette libération peut être due au relargage de l'ammonium déjà présent dans les sédiments (Balk *et al.* 2015) d'où l'importance d'attendre l'état d'équilibre avant de calculer les taux de production. Passé ce délai, tous les réacteurs ont produits de l'ammonium. Contrairement au nitrite qui peut uniquement provenir de la réduction du nitrate dans les conditions expérimentales (exclusion de la nitrification cause de l'absence d'oxygène dans le milieu), la production d'ammonium peut aussi être due à la minéralisation de la matière organique et à la DNRA (Jacinthe et Groffman 2006; Enrich-Prast *et al.* 2016).

Dans les incubations contenant le tapis microbien, les taux de production d'ammonium sont plus importants que les taux de production de nitrite excepté à la plus forte concentration de nitrate testée (Tableau 17). La faible production de nitrite associée à la production simultanée d'ammonium par les réacteurs soumis aux faibles concentrations en nitrate peut être due à la présence de micro-organismes réducteurs de nitrites. Ces micro-organismes en condition limitée en nitrate sont susceptibles d'utiliser le nitrite comme accepteur d'électron alternatif pour la dégradation de la matière organique via les processus de dénitrification partielle ou de DNRA (Simon 2002; Streminska *et al.* 2012; Balk *et al.* 2015).

Tableau 17 Moyenne des taux de production d'ammonium (APR), de nitrite (NPR) et taux de réduction de nitrate (NRR) en fonction des différentes concentrations de nitrate fournies par la solution nourrice au sédiment pour chaque réacteur.

Matrices incubées	Dates	Concentration de la solution nourrice	Taux de réduction du nitrate (NRR)		Taux de production du nitrite (NPR)		Taux de production de l'ammonium (APR)		APR:NRR
			(μM)	($\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$)	Écart-type	($\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$)	Écart-type	($\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$)	
Sédiments ST	07/03/2017	509,5	65,9	10,1	21,6	13,4	37,3	15,5	0,6
		4669,3	147,8	54,6	154,1	90,5	25,6	13,4	0,2
Sédiments ST+Tapis	14/06/2017	92,6	19,4	2,6	0,7	0,5	86,2	21,6	4,4
		347,6	71,8	9,8	0,2	0,2	82,1	34,5	1,1
		464,9	91,6	8,8	1,5	1,6	138,9	35,9	1,5
		4623,8	610,9	96,1	453,2	128,4	128,5	21,6	0,2
Sédiments ST+Tapis	12/07/2017	99,6	18,4	2,1	0,2	0,2	55,2	18,9	3,0
		196,5	34,6	4,1	0,1	0,0	56,4	12,3	1,6
		496,5	94,7	9,1	0,8	1,1	68,7	17,8	0,7
		5714,3	658,3	138,4	401,0	110,7	39,7	10,0	0,1
Sédiments ST	20/09/2017	125,5	23,8	2,2	2,6	1,6	36,7	3,0	1,5
		205,2	37,2	4,7	6,5	2,8	36,4	6,1	1,0
		464,2	82,3	8,4	38,0	7,0	39,1	6,7	0,5
		4561,7	188,9	42,9	25,2	25,2	24,3	12,3	0,1

Comme présenté dans la Figure 43 le rapport entre la production d'ammonium (APR) et le taux de réduction du nitrate (NRR) est plus élevé aux faibles concentrations ; la production d'ammonium y est plus importante.

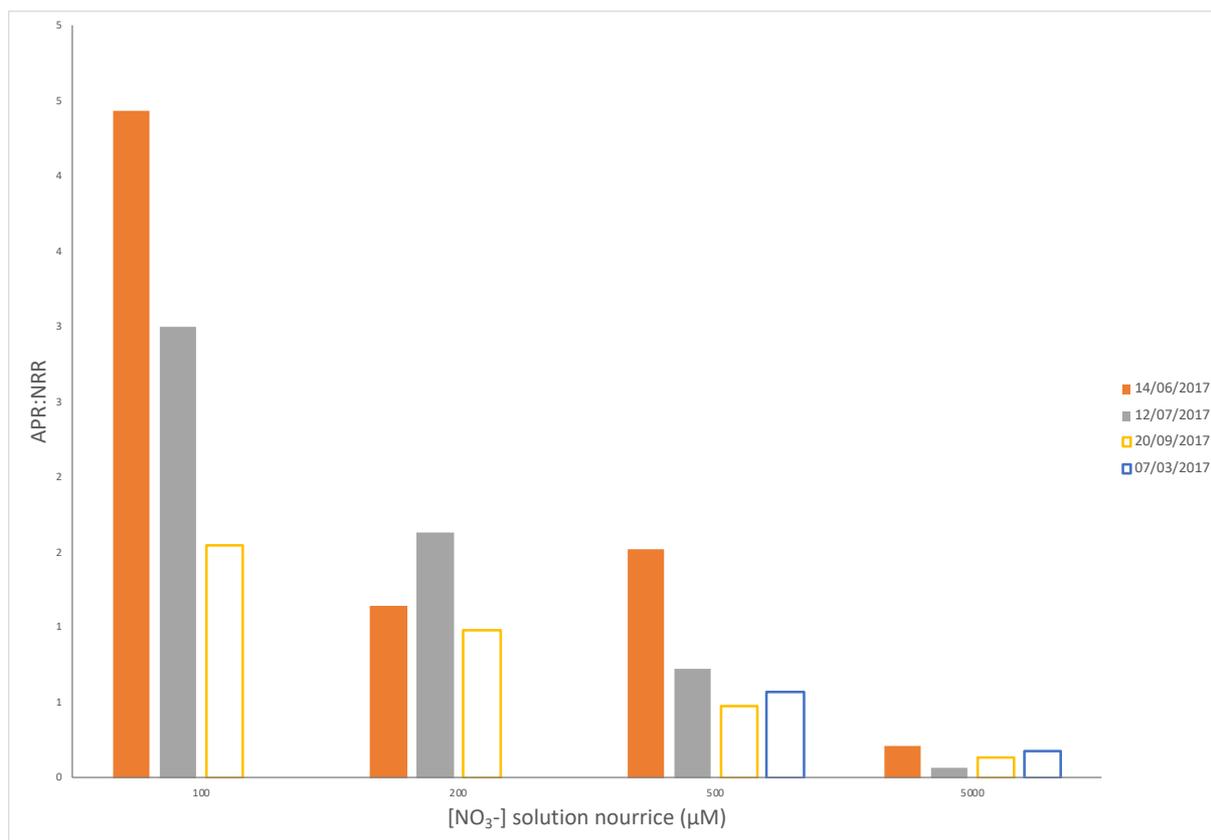


Figure 43 : Rapport entre la production d'ammonium (APR) et le taux de réduction du nitrate (NRR) en fonction des concentrations en nitrate fournies par les solutions nourrices pour les différents traitements. Histogramme plein = réacteurs incubés du mélange sédiment tapis. Histogramme vide = réacteurs de sédiments seuls

Les processus de DNRA et de dénitrification peuvent avoir lieu en même temps dans les sédiments étudiés en fonction des apports en nitrate. En effet, la part de chaque processus varie d'une mangrove à une autre et peut aussi varier au sein d'une même mangrove. Cette balance est principalement contrôlée par l'apport d'accepteurs d'électrons (NO_3^-) et de donneurs d'électrons sous forme de matière organique labile (Reis *et al.* 2017b). Cette forte production d'ammonium concomitante à l'élimination du nitrate à faible concentration serait en faveur de la DNRA qui est favorisée dans les milieux riches en matière organique et limités en nitrate (Laverman *et al.* 2006; Burgin et Hamilton 2007; Fernandes *et al.* 2012a; Cao *et al.* 2016).

Cette balance entre processus est aussi contrôlée par d'autres facteurs secondaires telles que la présence de macrophytes, de microalgues benthiques, de H_2S et de FeS (Enrich-Prast *et al.* 2016; Kristensen *et al.* 2017). Le processus de DNRA semble être favorisé dans les milieux marins colonisés par des bactéries filamenteuses stockant les ions nitrates (Dale *et al.* 2019). Ainsi la nature du tapis peut avoir influencé la production totale d'ammonium expliquant les quantités différentes observées entre juin et juillet. La réduction dissimilative du nitrate chez

ces bactéries conduit préférentiellement à l'ammonium plutôt qu'au diazote (Jørgensen et Nelson 2004; Pandey *et al.* 2020). Ce constat a été confirmé par Sayama *et al.* en 2015, qui lors de leur étude ont démontré qu'en présence de *Beggiatoaceae*, la DNRA était le processus prédominant de réduction du nitrate. Le processus de dénitrification a quant à lui été détecté uniquement dans les sédiments exempts de *Beggiatoaceae* (Sayama *et al.* 2005).

4.1.4 Hypothèses sur les voies d'élimination

4.1.4.1 Étude du rapport APR/NRR

Comme étudié par Laverman *et al.* (2006), l'étude du rapport APR/NRR peut apporter des pistes supplémentaires sur l'identification des processus en présence (Tableau 18).

Tableau 18 : Rapport entre la production d'ammonium (APR) et le taux de réduction du nitrate (NRR en fonction des voies métaboliques (Laverman *et al.* 2006)

Voies métaboliques	Réactifs	Produits	APR /NRR
Dénitrification	NO_3^- $(\text{CH}_2\text{O}) (\text{NH}_3)_{0.15}$	$\text{N}_2, \text{HCO}_3^-, \text{NH}_4^+$	0.19
Dénitrification incomplète	NO_3^- $(\text{CH}_2\text{O}) (\text{NH}_3)_{0.15}$	$\text{NO}_2^-, \text{HCO}_3^-, \text{NH}_4^+$	0.075
DNRA	NO_3^- $(\text{CH}_2\text{O}) (\text{NH}_3)_{0.15}$	$\text{NH}_4^+, \text{HCO}_3^-, \text{NH}_4^+$	1.15
Anammox	NO_2^- $(\text{NO}_3^-) (\text{NH}_4^+)$	N_2	-0.93
Minéralisation sans dénitrification	R-NH_2	NH_4^+	$+\infty$
Assimilation de l'azote	NH_4^+	R-NH_2	$-\infty$

Ces rapports une fois ramenés aux taux de réduction potentiels de nitrate permettent de définir des seuils théoriques pour les différentes voies d'élimination du nitrate (Figure 44).

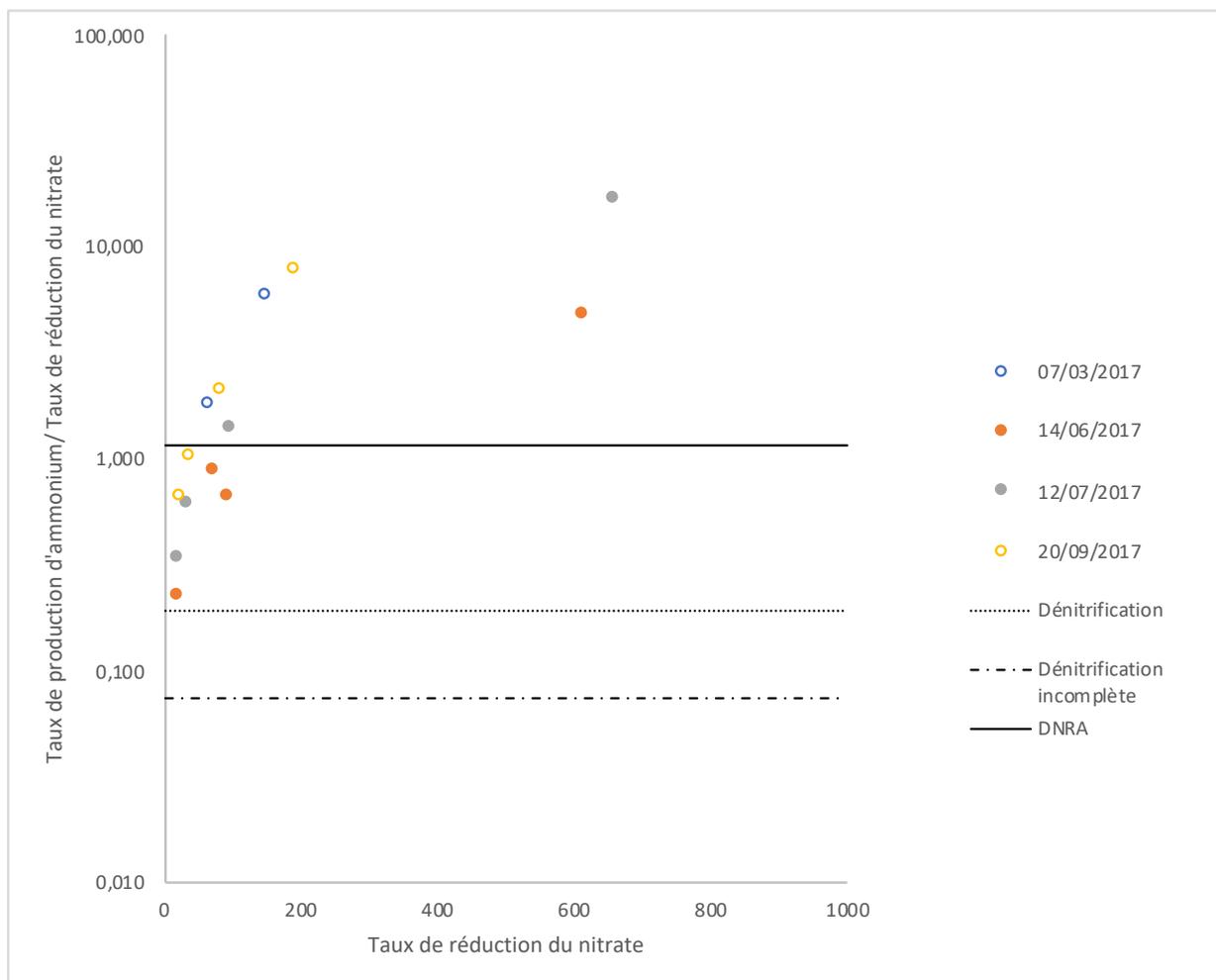


Figure 44 Rapport entre la production d'ammonium (APR) et le taux de réduction du nitrate (NRR) en fonction des taux de réduction de nitrate pour les différents traitements. Les symboles vides correspondent aux sédiments qui n'ont pas fait l'objet d'ajout de tapis microbien. La courbe pleine correspond au rapport APR/NRR théorique pour le processus de DNRA, les courbes en pointillés correspondent aux rapports APR/NRR pour la dénitrification complète et incomplète modifié de (Laverman *et al.* 2006)

En plus de la forte production d'ammonium et de la très faible production de nitrite (excepté à 5000 μM [Tableau 17]), les valeurs APR/NRR supérieures à 1,15 à la plus faible concentration en nitrate fournie, représentent un nouvel argument en faveur de la présence du processus DNRA dans les sédiments étudiés. La DNRA est favorisée vis-à-vis de la dénitrification dans les zones anoxiques où la matière organique labile est riche et dans lesquelles le nitrate est en conditions limitantes (Herbert 1999; Burgin et Hamilton 2007; Zhao *et al.* 2020). Ces conditions sont réunies dans les sédiments étudiés. Ainsi, les contributions variables de la DNRA à la réduction des nitrates et à la production d'ammonium peuvent expliquer les rapports variables APR/NRR supérieurs à ceux attendus pour la seule dénitrification.

En augmentant les concentrations de nitrate fournies aux réacteurs (conditions non limitantes) les ratio APR /NRR diminuent et deviennent rapidement inférieures à 1,15 suggérant ainsi que la voie d'élimination privilégiée semble être la dénitrification.

Les rapports obtenus laissent à penser que le processus d'anammox seul n'a pas lieu au sein des matrices incubées. En effet l'anammox serait caractérisée par un rapport APR/NRR bas (voir Tableau 18) et aucunes des valeurs obtenues n'est négative. Les conditions d'études ont pu empêcher ce processus qui a potentiellement lieu dans les conditions naturelles de la zone à savoir des concentrations en nitrate faibles. En effet les bactéries anammox se développent dans des niches écologiques pauvres en nutriment, ainsi les fortes concentrations en substrat ont tendance à inhiber le processus d'anammox (Strous *et al.* 1999). Les estimations des taux d'anammox dans les sédiments de mangrove sont rares (Li et Gu 2013; Wang et al. 2013), mais deux études expérimentales ont révélé que ces taux représentent moins de 10% de la production totale de N₂ (Meyer *et al.* 2005; Fernandes *et al.* 2012b; Kristensen *et al.* 2017).

Les apports de nitrates semblent modifier les voies métaboliques en présence dans les sédiments mettant en lumière la forte adaptabilité des populations microbiennes présentes dans les sédiments.

4.1.4.2 Détermination des différentes voies de réduction des nitrates.

Afin de mesurer la dénitrification, les taux de production de N₂O ont été quantifiés après le blocage de la conversion du N₂O en N₂ par l'acétylène (Raymond *et al.* 1992) dans les sédiments ST seuls. Cette approche suppose qu'en présence d'acétylène le taux de production de N₂O est égal au taux de conversion du nitrate en N₂ par les bactéries dénitrifiantes (Sorensen *et al.* 1987; Jacinthe et Groffman 2006).

La Figure 45 présente les taux de production de N₂O (N₂OPR), d'ammonium et de nitrate associées à la réduction du nitrate. Quelle que soit la concentration de nitrate fournie au sédiment une production de N₂O a lieu dans tous les réacteurs. Avec des variations allant de 6,3 à 13,5 nmol.cm⁻³.h⁻¹, l'augmentation des concentrations de nitrate dans la solution nourrice n'a pas d'influence significative sur taux de production d'oxyde nitreux. En effet, même si la production d'N₂O augmente avec les concentrations en NO₃⁻, elle n'atteint pas son maximum à la concentration de NO₃⁻ maximum introduite mais à 464 μM. Cette production de N₂O qui semble être favorisée aux fortes concentrations est inférieure à la production d'ammonium pour toutes les expériences réalisées.

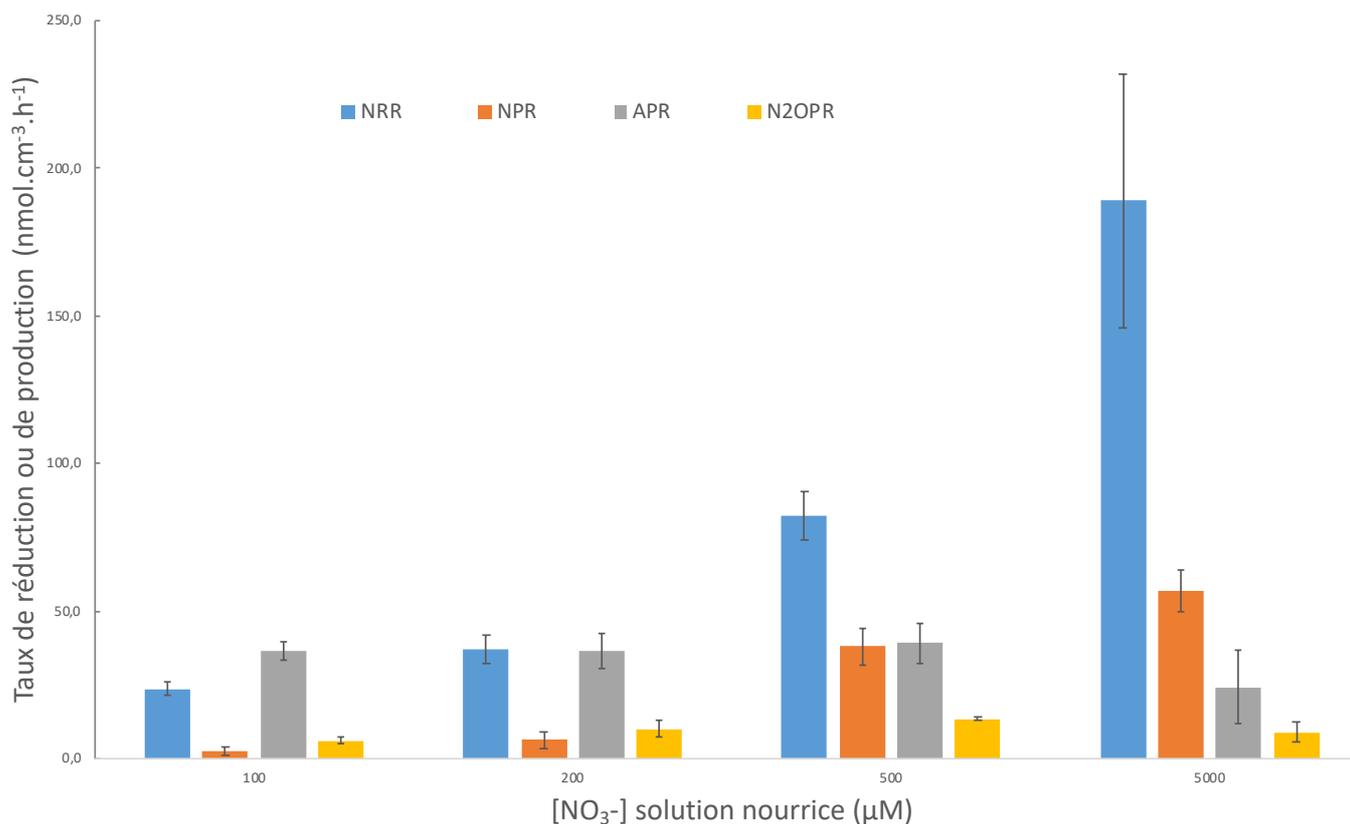


Figure 45 Taux de production d'ammonium (APR), de nitrite (NPR), d'oxyde nitreux (N₂OPR) et taux de réduction de nitrate (NRR) en fonction des différentes concentrations de nitrate fournies par la solution nourrice, septembre 2017.

Pour les différents traitements la production d'ammonium varie peu mais les rapports entre les taux de production d'ammonium et les taux de réduction de nitrate sont plus élevés aux concentrations faibles en nitrate (Tableau 19). Ces mesures corroborent les hypothèses faites ci-dessus (ratio APR/NRR), à savoir la présence majoritaire de la DNRA à faible concentration en nitrate dans les sédiments étudiés.

Dans ce qui suit, les taux de production de N₂O et de NO₂⁻ (dénitrification incomplète) seront assimilés au taux de dénitrification. Les pourcentages de dénitrification présentés dans le Tableau 19 confirment qu'avec des valeurs allant de 35 à 62,6% les taux de production d'oxyde nitreux associés au taux de production de nitrite ne permettent pas d'expliquer à eux seuls la totalité de la disparition du nitrate. En effet dès 1996, Rivera-Monroy *et al.* ont rapporté que moins de 10% des quantités de nitrate fournis aux sédiments de mangrove de périphérie de Terminos lagoon au Mexique étaient dénitrifiés, tandis que le reste était récupéré sous forme d'azote particulaire (PN) dans les sédiments. Ces résultats suggèrent que les taux de dénitrification directe étaient limités par la disponibilité de NO₃⁻ et l'immobilisation microbienne dans les sédiments. Plus récemment Chiu *et al.* (2004) ont indiqué que dans les

mangroves 55 % à 76 % de la perte de l'azote se fait par dénitrification, alors que Fernandes *et al.* (2012) évaluent à 99 % la part de DNRA pour des concentrations $^{15}\text{N-NO}_3^-$ de 80 μM . En 2016, Cao *et al.* ont confirmé cette occurrence de la DNRA dans les sédiments de mangrove en déterminant un taux de réduction de nitrate de $204,53 \pm 48,32 \mu\text{mol N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ ce qui représente approximativement 75,7-85,9 % de la réduction totale du nitrate alors que la dénitrification et l'anammox ont des taux de réduction respectifs de 5,6-9,5 % et 8,5-14,8 %. Pour les résultats obtenus dans cette thèse, pour les solutions nourrices entre 126 et 464 μM en nitrate on observe une diminution du rapport APR/NRR concomitante à l'augmentation du taux de production de N_2O et du pourcentage de dénitrification. Cette tendance n'est pas suivie à la solution nourrice la plus concentrée. En effet, le rapport APR/NRR et le pourcentage de dénitrification diminuent tous les deux. Ce phénomène pourrait marquer la saturation de l'activité d'élimination du nitrate par les processus de DNRA et de dénitrification dans les sédiments et/ou à l'existence d'autres processus tel que l'anammox. La couche supérieure des sédiments des mangroves fourni un environnement favorable pour la croissance des bactéries anammox (Zhang *et al.* 2020). En fournissant de l'ammonium et du nitrite substrat du processus d'anammox, il est possible que la DNRA soit combinée à ce processus (Zarama-Alvarado 2018; Dale *et al.* 2019).

Tableau 19 : Moyenne des taux de production d'ammonium, de nitrite et d'oxyde nitreux, taux de réduction de nitrate, rapport APR/NRR et pourcentage de dénitrification en fonction des différentes concentrations de nitrate fournies par la solution nourrice au sédiment ST, septembre 2017.

Concentration de la solution nourrice	Taux de réduction du nitrate (NRR)		Taux de production du nitrite (NPR)		Taux de production de l'ammonium (APR)		Taux de production oxyde nitreux (N_2OPR)		APR:NRR	%Dénitrification
	μM	($\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$)	Ecart-type	($\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$)	Ecart-type	($\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$)	Ecart-type	($\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$)		
126	23,8	2,2	2,6	1,6	36,7	3,0	6,3	0,9	1,5	37,3
205	37,2	4,7	6,5	2,8	36,4	6,1	10,0	2,9	1,0	44,4
464	82,3	8,4	38,0	7,0	39,1	6,7	13,5	0,5	0,5	62,6
4562	188,9	42,9	57,1	25,2	24,3	12,3	9,1	3,4	0,1	35

4.1.4.3 Minéralisation de l'azote, DNRA et dénitrification

Dans les conditions d'études (anoxie et absence d'autre accepteur d'électron que le nitrate dans solutions nourrices), la production d'ammonium peut être due au processus de minéralisation de la matière organique et/ou au processus de DNRA. Afin d'évaluer la part respective de chacun de ces processus, les taux de minéralisation maximum obtenus dans le chapitre sur la réactivité des sédiments ST (3.1.4.2 Taux de minéralisation) ont été utilisés pour estimer les

quantités d'ammonium produites par minéralisation. Ainsi les quantités de matière théoriques d'ammonium produites par minéralisation ont été calculées à partir des taux de production d'ammonium les plus faibles obtenus dans le chapitre précédent soit à 5000 μM et dans les conditions de minéralisation les plus défavorables (taux de minéralisation maximal). Après calcul, les quantités d'ammonium théoriques produites par minéralisation dans les expériences de juin et juillet sont négligeables par rapport aux quantités totales d'ammonium produites au cours des incubations en réacteur à flux continu (Tableau 20). L'ammonium produit au cours des incubations n'est donc pas uniquement issu du processus de minéralisation de la matière organique. Ce constat forme un nouvel argument en faveur de la DNRA.

Tableau 20 : Évaluation des quantités de matière d'ammonium produites par minéralisation dans les réacteurs à flux continu pour les incubations du 16/06/2017 et du 12/07/2017 pour les jours 1 (J1) et deux (J2) des incubations à 5 mM en nitrate à partir du taux de minéralisation obtenu dans les sédiments ST du chapitre 3.

Conditions		NH ₄ ⁺ produit par minéralisation (théorique) (nmol)	NH ₄ ⁺ total produit lors des incubations (nmol)
KNO ₃ 14/06/2017	J1	2,14	25 709
	J2	1,93	18 387
K ¹⁵ NO ₃ 12/07/2017	J1	2,01	8 239
	J2	1,87	5 851

D'autres part, dans les sédiments riches en matière organique, les communautés bactériennes réductrices de sulfate en fournissant des donneurs d'électrons par les fortes concentrations en sulfures favorisent le processus de DNRA en inhibant le processus de dénitrification (An et Gardner 2002; Shao *et al.* 2010; Giblin *et al.* 2013). En effet, les sulfures inhibent les enzymes monoxyde d'azote réductase et des oxydes d'azote réductase qui contrôlent la réduction du N₂O en N₂ lors de la dénitrification (Brunet et Garcia-Gil 1996; Jacinthe et Groffman 2006; Deng *et al.* 2015).

4.1.5 Traçage isotopique

4.1.5.1 Evolution $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ et $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ au cours des expériences

Pour confirmer l'occurrence de la DNRA, une expérimentation a été réalisée avec comme substrat du KNO₃ enrichi en ¹⁵N (K¹⁵NO₃). La combinaison du traçage isotopique avec le suivi

des cinétiques grâce à l'utilisation des réacteurs à flux continu permet de mieux appréhender les dynamiques liées à l'ammonium dans les sédiments étudiés. Afin de confirmer que l'ammonium produit provient bien du processus de DNRA, le $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ et $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ ont été suivis en sortie de réacteur pour les expériences de juin ($^{15}\text{N-NO}_3^-$ non marqué) et juillet ($^{15}\text{N-NO}_3^-$ enrichi à 40 ‰). Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 21. Si la DNRA s'opère, les $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ devrait être enrichi également (McCready *et al.* 1983). De plus, le choix d'un nitrate faiblement enrichi a été fait afin de tenter de calculer le fractionnement isotopique associé au processus de DNRA qui n'est à ce jour pas connu (Nikolenko *et al.* 2018; Dale *et al.* 2019). A noter que pour une concentration et un jour donné, les échantillons ont été rassemblés afin d'avoir les quantités de matière suffisantes pour les analyses isotopiques.

Tableau 21: $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ et $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ pour les solutions nourrices et les solutions de sortie de réacteur pour les expériences d'ajout de nitrate de potassium non enrichi (14/06/2017) et enrichi (12/07/2017) par le biais de la solution nourrice.

	Conditions	Solution nourrice				Solution de sortie de réacteur												
		[NO ₃] ⁻ sol nourrice	Jour	NO ₃ ⁻	N-NO ₃ ⁻	¹⁵ N-NO ₃ ⁻	NO ₃ ⁻	N-NO ₃ ⁻	[NO ₃] ⁻ Red	¹⁵ N-NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	N-NO ₂ ⁻	[NO ₂] ⁻ Prod	NH ₄ ⁺	N-NH ₄ ⁺	NH ₄ ⁺ Prod	¹⁵ N-NH ₄ ⁺	
Expériences	μM	μmol	μmol	‰	μmol	μmol	nmol.cm ⁻³ .h ⁻¹	‰	μmol	μmol	nmol.cm ⁻³ .h ⁻¹	μmol	μmol	nmol.cm ⁻³ .h ⁻¹	μmol	μmol	nmol.cm ⁻³ .h ⁻¹	‰
KNO ₃	14/06/2017	100	1	3,22	0,73	3,1	0,00	0,00	19,56	< LOQ	0,12	0,04	0,67	13,89	10,81	84,25	0,9	
			2	3,13	0,71	3,1	0,00	0,00	19,67	23,5	0,11	0,03	0,63	14,68	11,41	92,81	3,4	
	12/07/2017	200	1	12,31	2,78	2,1	0,04	0,01	74,44	NA	0,05	0,01	0,26	20,45	15,90	123,65	3	
			2	11,00	2,48	2,1	0,08	0,02	68,77	< LOQ	0,05	0,01	0,28	9,42	7,33	59,06	3,4	
		500	1	17,06	3,85	1,9	0,73	0,17	98,90	< LOQ	0,08	0,02	0,45	25,90	20,14	156,21	5,8	
			2	14,66	3,31	1,9	0,54	0,12	88,77	< LOQ	0,46	0,14	2,90	24,87	19,34	155,70	5,2	
K ¹⁵ NO ₃	14/06/2017	100	1	3,27	0,74	39,1	0,00	0,00	19,59	< LOQ	0,06	0,02	0,38	9,09	7,07	54,50	13,4	
			2	2,80	0,63	39,1	0,00	0,00	16,81	< LOQ	0,02	0,01	0,13	10,37	8,07	62,21	10	
	12/07/2017	200	1	6,68	1,51	39,6	0,58	0,13	36,52	< LOQ	0,02	0,00	0,10	9,62	7,48	57,40	17,5	
			2	5,75	1,30	39,6	0,16	0,04	33,51	< LOQ	0,09	0,03	0,03	10,36	8,06	61,87	11,4	
		500	1	17,84	4,03	39,7	2,79	0,63	90,17	< LOQ	0,09	0,03	0,56	12,68	9,86	75,67	26,3	
			2	17,09	3,86	39,7	1,09	0,25	95,89	< LOQ	0,17	0,05	1,03	12,23	9,51	73,02	19,1	
		5000	1	198,46	44,81	40,5	81,39	18,38	702,22	68,4	68,30	20,79	409,61	8,24	6,41	48,83	27,9	
			2	193,37	43,66	40,5	98,58	22,26	568,06	54,7	58,50	17,80	350,63	5,85	4,55	34,58	32,5	

Les concentrations en sortie de réacteur sont toutes inférieures à $1\mu\text{M}$ à l'exception des réacteurs qui ont été soumis à une concentration $5000\mu\text{M}$ en nitrate via la solution nourrice (Tableau 21).

Pour l'expérience sans marquage, les $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ des solutions nourrice varient de 1,9 à 3,1‰. Plus la concentration de la solution nourrice augmente, plus le $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ de cette dernière diminue. Cependant en comparant la composition isotopique des solutions nourrices entre le J1 et le J2, on constate que ces valeurs sont stables au cours du temps. Pour l'expérience avec le nitrate marqué, le $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ des solutions nourrices est le même pour toutes les solutions nourrices.

Quel que soit le traitement appliqué aux sédiments incubés, pour les points où du nitrate résiduel est mesuré en sortie de réacteur, le $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ est significativement supérieur à celui d'entrée. Cette augmentation suggère un processus de réduction des nitrates.

Pour les deux traitements, une augmentation du $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ est observée avec l'augmentation des concentrations en nitrate des solutions nourrices. Dans le cadre de l'expérience sans ajout de nitrate enrichi, si la variation de $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ était uniquement due au processus de minéralisation, les valeurs obtenues devraient tendre vers le $\delta^{15}\text{N}$ du sédiment à savoir 3,7 ‰ (Tableau 14). En effet le $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ devrait tendre vers les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ de la matière organique dont il est issu.

Dans le cas où le NH_4^+ serait produit par DNRA, un appauvrissement de l'ammonium résiduel serait attendu. Dans le cas pour des réacteurs soumis à la solution nourrice de KNO_3 non enrichi de $500\mu\text{M}$ ce n'est pas le cas. Il existe probablement en parallèle un processus qui provoque un enrichissement du NH_4^+ résiduel (volatilisation ou anammox). En effet, NH_4^+ produit au cours de la DNRA ou de la minéralisation peut être combiné au NO_2^- dérivé de la réduction dissimilative du nitrate pour former du N_2 par anammox (Song *et al.* 2013; Nikolenko *et al.* 2018; Dale *et al.* 2019; Valiente *et al.* 2020). Dans le traitement au nitrate non enrichi, l'appauvrissement le plus élevé en sortie de réacteur est mesuré pour la solution nourrice de concentration en nitrate la plus faible ($100\mu\text{M}$), ce qui pourrait indiquer que la DNRA soit plus importante à cette concentration (production ammonium élevée et ammonium résiduel appauvri).

Dans l'expérience avec le nitrate enrichi, l'ammonium produit est lui aussi enrichi. En effet, alors qu'avec le KNO_3 non marqué le $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ varie entre 0,9 et 5,8 ‰, avec le nitrate enrichi les valeurs augmentent nettement et oscillent entre 10 et 26,3 ‰.

Ainsi, une partie de l'ammonium produit provient bien du nitrate. Ces résultats indiquent clairement que la DNRA s'opère dans les sédiments incubés.

Pour des raisons de logistique, les incubations avec et sans nitrate enrichi en ^{15}N n'ont pas été réalisées au même moment. Des différences de cinétiques sont observées entre ces deux expérimentations (Figure 46).

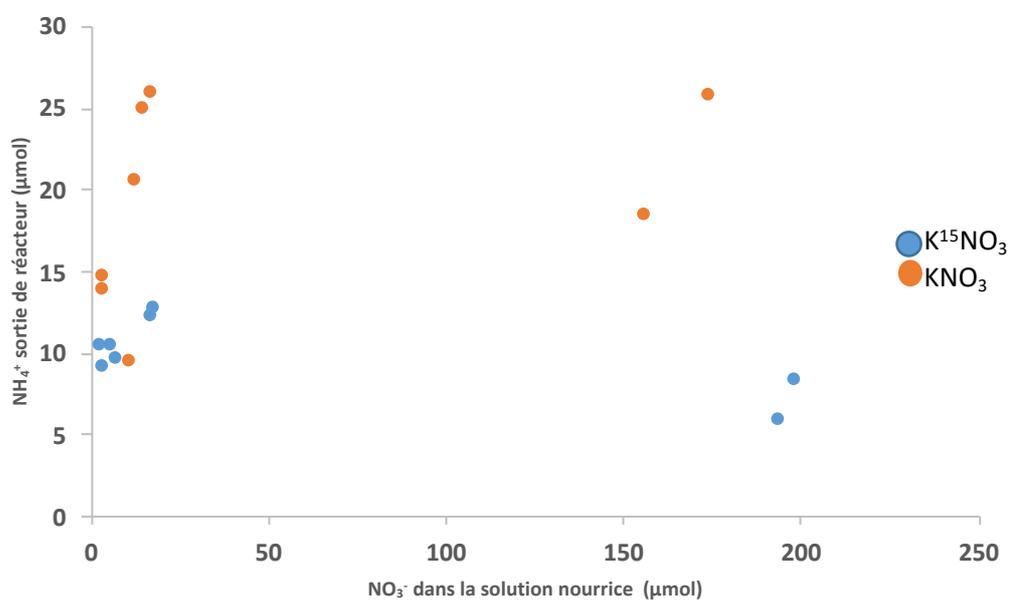


Figure 46 : Évolution des quantités de matière de NH_4^+ en sortie de réacteur en fonction des quantités de matière de NO_3^- de la solution nourrice (bleu expérience avec le nitrate enrichi, orange expérience avec le nitrate non marqué).

Plus les quantités de nitrate dans la solution nourrice sont faibles et plus la production d'ammonium est élevée. Cela confirme que la concentration en nitrate joue un rôle sur le taux de DNRA. Cependant, pour une même quantité de nitrate en entrée de réacteur, la production d'ammonium pour l'expérience avec le nitrate enrichi est inférieure à celle avec le nitrate non marqué. Dans les deux expériences, aux fortes quantités de nitrate, la production d'ammonium semble atteindre un pallier.

4.1.5.2 DNRA versus minéralisation

Si l'on considère les cinétiques suivies par le $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ en sortie de réacteur en fonction du pourcentage de NO_3^- réduit dans les sédiments qui ont été soumis aux solutions nourrice allant jusqu'à 500 μM (Figure 47), pour les deux cinétiques, la diminution de la réduction du nitrate s'accompagne d'une augmentation significative du $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ en sortie de réacteur.

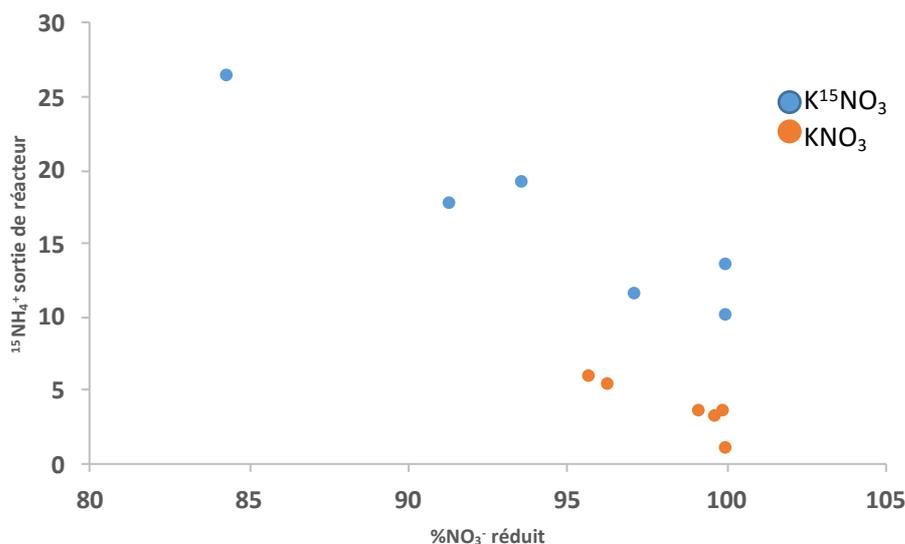


Figure 47 : Évolution du $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ en sortie de réacteur en fonction du pourcentage d'élimination du NO_3^- pour les sédiments ayant été soumis aux solutions nourrice de 100, 200 et 500 μM (bleu expérience avec le nitrate enrichi, orange expérience avec le nitrate non marqué).

Le NH_4^+ produit peut provenir de la minéralisation de la matière organique, mais la quantité de minéralisation n'étant pas dépendante de la quantité de NO_3^- introduite, les écarts de production sont donc dus à un autre processus que la minéralisation.

Si l'on observe l'évolution $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ en sortie de réacteur en fonction des quantités de matière de NH_4^+ en sortie de réacteur (Figure 48), pour l'expérience avec le NO_3^- non enrichi, une augmentation de ^{15}N avec la quantité de NH_4^+ produite est observée. De plus, pour l'expérience avec le nitrate enrichi, les valeurs $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ sont inférieures à celles du $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ ajouté mais supérieure à celle du sédiment, ce qui est un argument supplémentaire confirmant bien qu'une partie du NH_4^+ est produit à partir du NO_3^- provenant de la solution nourrice et que la réduction du nitrate en NH_4^+ appauvrit le $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ du produit néo-formé.

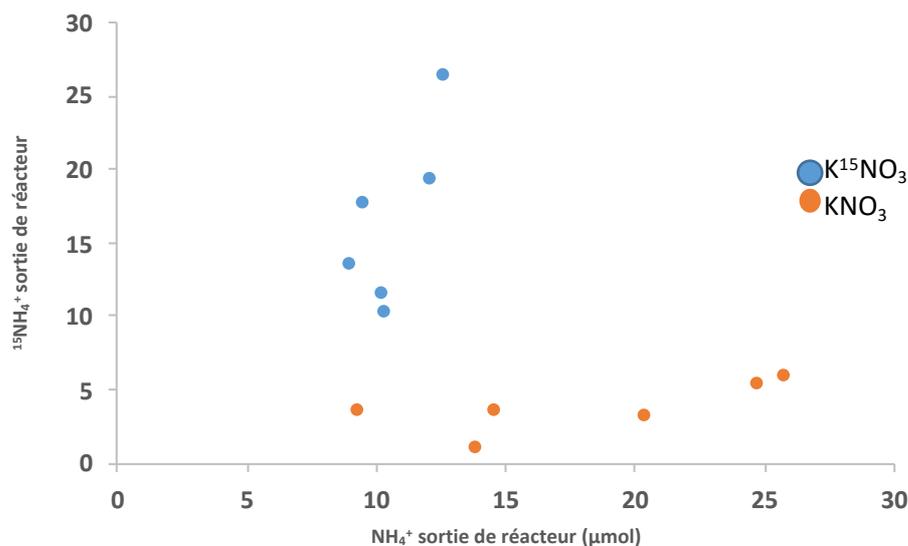


Figure 48 : Evolution du $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ en sortie de réacteur en fonction des quantités de matière de NH_4^+ en sortie de réacteur (bleu expérience avec le nitrate enrichi, orange expérience avec le nitrate non marqué).

4.1.5.3 Fractionnement isotopique

Pendant la réduction des nitrates, l'augmentation du $\delta^{15}\text{N}$ du nitrate résiduel est causé par la réduction préférentielle de $^{14}\text{N-NO}_3^-$ (Sebilo *et al.* 2019) et un enrichissement conséquent en ^{14}N de l'ammonium. Ainsi au cours de la réduction du nitrate, les concentrations doivent logiquement diminuer et s'accompagner d'une augmentation de la composition isotopique de l'azote nitrique résiduel (Sebilo *et al.* 2019).

Comme le nitrate a pratiquement été réduit dans l'ensemble des réacteurs, la mesure du $\delta^{15}\text{N}$ du NO_3^- résiduel n'a été possible en sortie de réacteur que pour l'expérience à 5mM. Les valeurs de $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ ont augmenté en passant de 40,5 ‰ de la solution nourrice à 68,5 ‰ et 54,7 ‰ respectivement pour les jours 1 et 2 dans les solutions de sortie. Le calcul du fractionnement n'a pu donc être réalisé qu'à partir de ces deux points. Même si des expériences supplémentaires avec un plus grand nombre de réplicats sont nécessaires pour caractériser de manière précise ce fractionnement lié à la DNRA, cette détermination permettra d'avoir une idée de sa valeur.

Le facteur d'enrichissement isotopique (ϵ) peut être directement connu graphiquement. La valeur de $\epsilon^{15}\text{N}$ est déterminée à partir de la pente de la droite de régression de la différence en $\delta^{15}\text{N}$ des nitrates entre le temps t et le temps initial ($\Delta\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$), en fonction du logarithme

népérien de l'état d'avancement de la réaction (C/C_0) avec C la quantité de nitrate à un instant t et C_0 la quantité initiale.

Les facteurs d'enrichissement isotopique associés à la réduction du nitrate calculés dans l'étude actuelle sont de -31,3 ‰ le jour 1 à -21,1 ‰ le jour 2. Il est important de noter que le facteur de fractionnement isotopique calculé dans le cadre de ce travail est apparent, basé sur la réduction du nitrate et qu'à ce jour le fractionnement isotopique de la DNRA n'est pas connu (Nikolenko *et al.* 2018). Le facteur d'enrichissement isotopique calculé ici intègre donc la dénitrification, la DNRA et les possibles effets de l'anammox sur le fractionnement isotopique. En effet, si la réduction du nitrate en nitrite est réversible, comme suggérée via l'utilisation de la nitrite oxydoréductase (Nxr) (bactéries anammox), le nitrate résiduel peut être affecté par des effets isotopiques supplémentaires associés à la réoxydation du nitrite, et par la composition isotopique initiale du nitrite en tant que telle (Dähnke et Thamdrup 2016). Il serait nécessaire de reproduire cette expérience avec plus de points de cinétique pour avoir plus de données et ainsi ségréger la dénitrification de la DNRA.

De plus, la mise en œuvre de l'analyse isotopique pose certains problèmes qui suscitent la controverse, comme le chevauchement des compositions isotopiques dans différentes sources et les variations spatiales et temporelles de la composition isotopique (Zarama-Alvarado 2018).

Tableau 22 : Détermination du facteur d'enrichissement isotopique du NO_3^- à partir des résultats obtenus pour les réacteurs soumis à une concentration en nitrate de 5000 μM par la solution nourrice

Conditions		Solution nourrice		Solutions de sortie de réacteur				ϵ
K^{15}NO_3	Jour	$\text{N-NO}_3^- (C_0)$	$^{15}\text{N-NO}_3^-$	$\text{N-NO}_3^- (C)$	$^{15}\text{N-NO}_3^-$	$\text{Ln}(C/C_0)$	$^{15}\text{N-NH}_4^+$	
		μmol	‰	μmol	‰		‰	
	12/07/2017	1	44,81	40,5	18,38	68,4	-0,89	27,9
	2	43,66	40,5	22,26	54,7	-0,61	32,5	-21,1

4.2 Conclusion

Les voies d'élimination du nitrate ont été étudiées dans les sédiments de la Manche à Eau. Dans les sédiments étudiés, la disponibilité des nitrates est un facteur clé contrôlant à la fois les taux de d'élimination et la présence des processus d'élimination de ce composé.

Les incubations en réacteur à flux continu des sédiments hors tapis (HT) et sous tapis microbien (ST) indiquent que les deux types de matrices ont la capacité de réduire le nitrate.

Les résultats obtenus en particulier la production d'ammonium en conditions limitées en nitrate et le traçage isotopique de l'ammonium produit au cours des incubations en réacteur à flux continu tendent à confirmer la co-occurrence des processus de dénitrification et de DNRA dans les sédiments recouverts de tapis microbien majoritairement composés de *Beggiatoaceae*.

En dépit de la faible part de la réduction des nitrates dans l'oxydation de la matière organique du fait de l'apport limité en nitrate des sédiments de mangrove, l'étude des taux potentiels de réduction du nitrate et les hauts pourcentages d'élimination du nitrate obtenus dans ce chapitre soutiennent que les sédiments de mangrove possèdent une grande capacité pour l'élimination de ce composé.

L'étude des cinétiques d'élimination du nitrate par la méthode des réacteurs à flux continus a permis d'entrevoir l'impact des variations des concentrations en NO_3^- sur le taux de réduction du nitrate et de production des intermédiaires réactionnels dans les sédiments hors tapis microbien et sous tapis de *Beggiatoaceae*. Ces résultats révèlent que les sédiments de mangrove associés au tapis microbien sont plus efficaces pour réduire le nitrate que les sédiments seuls et que les populations microbiennes réductrices de nitrates présentes s'adaptent rapidement aux changements de disponibilité du nitrate.

La forte production d'ammonium en dépit de la production liée à la minéralisation indique que la DNRA pourrait être une voie préférentielle de réduction du nitrate en particulier dans les sédiments présentant à leur surface le tapis microbien principalement constitué de *Beggiatoaceae* et aux faibles concentrations en nitrate.

5 Dynamique biogéochimique du sédiment de mangrove marine: étude de la disponibilité du nitrate, du carbone et du temps de contact eau /sédiment sur la réactivité du sédiment.

5.1 Introduction

Les zones humides, du fait de leur hydromorphie et de l'accumulation de matières organiques sont des zones réductrices reconnues potentiellement actives pour l'élimination de l'azote nitrique (Howard-Williams 1985; Jetten 2008; Billy *et al.* 2010; Fernandes *et al.* 2016; Luo *et al.* 2019). Parmi celles-ci, le caractère épuratoire des mangroves de régions tropicales a été peu étudié.

Milieu longtemps perçu comme hostile par les populations locales, les mangroves ont toujours été des sites privilégiés pour l'évacuation des eaux usées en raison de leur proximité avec les centres de population (Kathiresan et Bingham 2001). Cependant, ces écosystèmes riches en matière organique et très largement anoxiques pourraient être un filtre épuratoire aux apports telluriques insulaires avant de se déverser dans les eaux du lagon en particulier dans le cas des mangroves marines de Guadeloupe en raison du faible marnage qui les régit.

Les résultats du chapitre précédent obtenus au niveau de la Manche à Eau confirment le potentiel d'élimination du nitrate par les sédiments de mangrove marine. Ces résultats ont aussi permis d'appréhender l'influence des populations bactériennes présentes dans le milieu sur les voies métaboliques de réduction du nitrate. Dans le cadre de ce chapitre, le rôle tampon des mangroves a été évalué sur une zone à l'aval de rejets domestiques le long d'un gradient de densité de mangrove. Ainsi, afin de contribuer à l'amélioration des connaissances sur le cycle de l'azote dans les mangroves dites marines, il est proposé d'évaluer la réactivité des sédiments vis-à-vis des processus de réduction du nitrate au sein d'une mangrove située dans le même contexte pédoclimatique mais sujette à un gradient chimique différent dû à l'intrusion des eaux marines dans les eaux douces et aux activités humaines [artificialisation de l'habitat, pollutions ponctuelles via les rejets de station d'épuration (STEP)].

L'objectif principal de ce chapitre est de déterminer s'il existe une influence des rejets de STEP sur la dynamique des sédiments pour réduire la charge azotée. La réflexion qui en découle est

de déterminer si ce potentiel peut être utilisé en termes d'ingénierie environnementale avec notamment la limitation des apports d'azote insulaires aux écosystèmes côtiers.

Pour se faire, outre la caractérisation physico-chimique de chacun des sédiments du profil, des expérimentations de laboratoire ont été menées dans le but de tester l'impact des paramètres environnementaux et anthropiques sur la réactivité des sédiments. Après avoir caractérisé les sédiments, l'étude des effets du débit (temps de rétention), des concentrations en nitrate (accepteur d'électrons) et de la disponibilité du carbone labile (donneur d'électrons) ont été étudiés sur l'activité d'élimination du nitrate. Pour ce faire, les cinétiques de la consommation en nitrate et les taux potentiels de réduction du nitrate et de production de nitrite et d'ammonium en conditions contrôlées ont été déterminées à l'aide de la méthode des réacteurs à flux continu pour les sédiments de surface (0-2 cm de profondeur) de mangrove marine.

5.2 Matériels et méthodes

L'étude a été réalisée le long du Canal des Rotours situé à Morne-à-l'Eau (Figure 49).

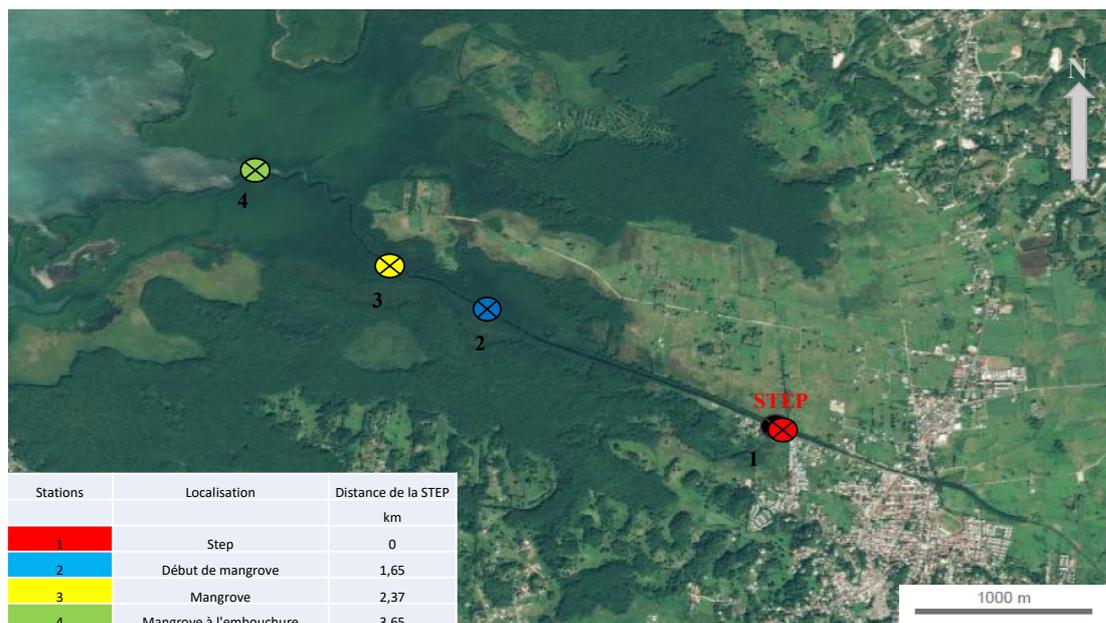


Figure 49 : Localisation des stations d'étude. Le long du canal des Rotours (Géoportail)

Le lit du canal a une largeur qui varie entre 18 et 30 mètres et une profondeur maximale de 2,9 m (Barbeyron 2014). Le canal se décompose morphologiquement en deux parties. Une première partie, située à l'amont que l'on peut qualifier d'urbaine qui traverse la ville de façon rectiligne. La deuxième partie sinueuse est occupée tout d'abord par une zone agricole puis des zones de mangrove (*Rizophora mangle*) de plus en plus dense en allant vers l'embouchure.

La commune de Morne-à-l'Eau rejette ses effluents de station d'épuration des eaux usées (STEP) directement dans le canal. Depuis octobre 2016, une nouvelle STEP d'une capacité de 8000 équivalents habitant (EH) a été mise en service pour remplacer l'ancienne qui était devenue obsolète. Cette STEP est exploitée et gérée la Régie Eau Nord Caraïbes de la communauté d'agglomération du Nord Grande Terre. L'usine en réseau pseudo-séparatif est amenée à traiter les eaux usées urbaines et industrielles et reçoit des apports externes sous forme de matières de vidange et de graisse ainsi que les boues de trois mini-stations (2510 EH). Cette nouvelle installation comme la précédente rejette ses effluents dans le canal. Sur un échantillon moyen de 24h, l'installation est conçue de façon à obtenir la qualité des effluents traités suivante: DBO_5 20 $mg.l^{-1}$; DCO 90 $mg.l^{-1}$; MES 30 $mg.l^{-1}$; NGL 15 $mg.l^{-1}$; Pt 2 $mg.l^{-1}$ (norme de rejet garantie le constructeur).

Les stations d'étude sont disposées depuis les rejets immédiats de la STEP de Morne-à-l'Eau (station 1) jusqu'à l'embouchure, 3,65 km à l'aval (station 4). Un profil bathymétrique a été réalisé en 2013 sur le canal des Rotours avec des mesures de la salinité (Barbeyron 2014). La Figure 50 présente le profil de salinité obtenu à l'aval de la STEP et celui obtenu à l'embouchure.

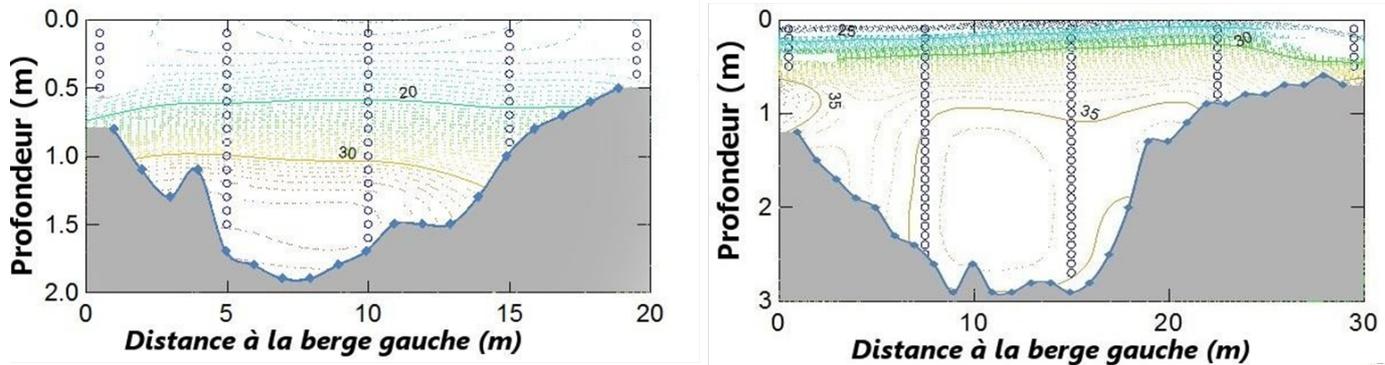


Figure 50 : Profils verticaux de salinité depuis l'aval de la STEP (gauche) à l'embouchure (droite), d'après Barbeyron (2014).

Du fait des différences significatives de températures et de salinité entre les eaux insulaires et les eaux océaniques, une stratification est observée sur toutes les stations de prélèvement. Les eaux de surface et de rejets de la STEP sont moins denses et moins chaudes. Elles se trouvent en surface, au-dessus des eaux marines. Le sédiment est en contact sur tout le profil avec des eaux marines dont la salinité est supérieure à 30 ‰. C'est le même niveau de salinité que celui rencontré pour les sédiments de la manche à Eau.

5.3 Résultats et discussion

5.3.1 Caractéristiques des différentes stations de prélèvement

5.3.1.1 Caractéristiques de la colonne d'eau

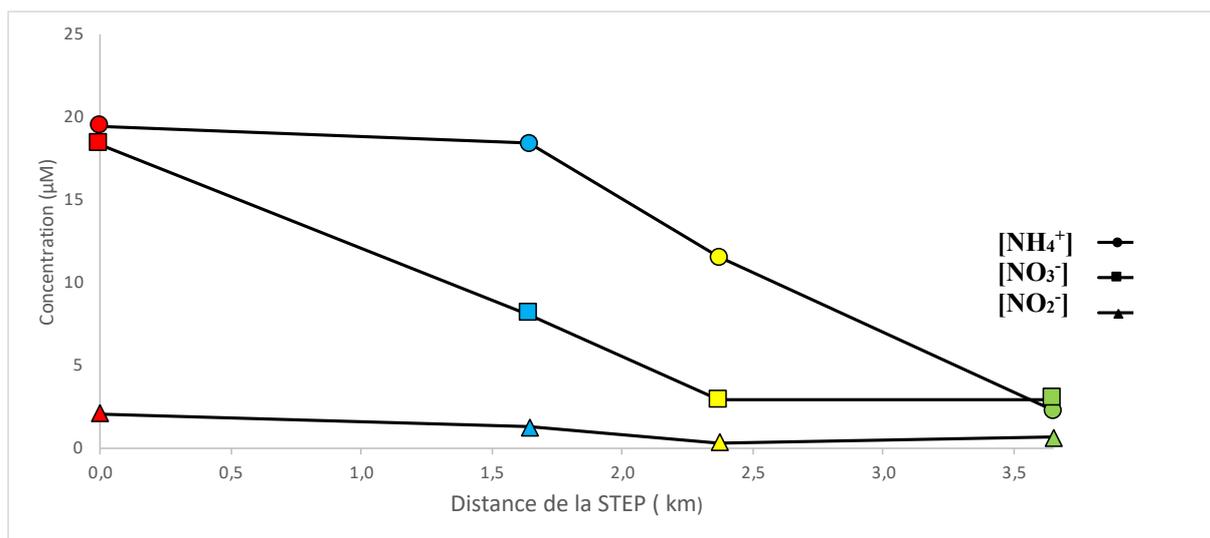
A l'issue des différents traitements, les éléments traces contenus dans les eaux usées se retrouvent dans les eaux épurées. Afin d'évaluer l'efficacité de cette rétention, trois mesures des éléments trace métalliques (As, Cd, Cu, Mn, Pb et Zn) ont été effectuées dans l'eau du canal au niveau du rejet de STEP ainsi qu'en amont et en aval dans le cadre de cette thèse. L'ensemble des résultats obtenus est inférieur à la limite de quantification excepté pour le manganèse pour lequel les concentrations sont de 72 $\mu\text{g.l}^{-1}$ en amont de la STEP de 34,7 $\mu\text{g.l}^{-1}$ au niveau de la STEP et de 53,6 $\mu\text{g.l}^{-1}$ à son aval et pour le zinc qui a été dosé à 14,8 $\mu\text{g.l}^{-1}$ au niveau de la STEP.

Une première série de mesures sur la colonne d'eau avait été réalisée en mars et avril 2014 par l'équipe du laboratoire alors que l'ancienne STEP était encore en service. De façon à pouvoir comparer les résultats, les prélèvements faits dans le cadre de cette thèse ont été réalisés dans les mêmes conditions à savoir vers 50 cm de profondeur en partant de la surface. En effet, du fait de la stratification de la colonne d'eau le long du canal (Barbeyron 2014), cette précaution a été prise afin de s'assurer que l'échantillonnage soit effectué dans la même couche d'eau salée. Les concentrations mesurées en 2014 sont toutes supérieures à celles mesurées dans le cadre de cette thèse (Tableau 23), cependant la tendance de diminution des concentrations en s'éloignant de la zone de rejet est également observée.

Tableau 23 : Comparaison des concentrations en nitrate, nitrite et ammonium de l'étude avec une série de mesures réalisée en 2014.

Station	Localisation	$[\text{NO}_3^-]_{\text{étude}}$	$[\text{NO}_3^-]_{2014}$	$[\text{NO}_2^-]_{\text{étude}}$	$[\text{NO}_2^-]_{2014}$	$[\text{NH}_4^+]_{\text{étude}}$	$[\text{NH}_4^+]_{2014}$
		μM					
1	Step	18,29	42,88	2,10	5,04	19,40	31,59
2	Début de mangrove	8,08	41,83	1,30	5,54	18,40	29,99
3	Mangrove	2,94	46,86	0,40	4,74	11,50	21,84
4	Mangrove à l'embouchure	2,98	24,83	0,70	1,60	2,30	4,43

Les concentrations en ammonium, nitrate et nitrite ont été mesurées en octobre 2017 dans la colonne d'eau pour l'ensemble des stations (Figure 51).



Station	Localisation	Distance de la STEP km	[NO ₃ ⁻] μM	[NO ₂ ⁻] μM	[NH ₄ ⁺] μM
1	Step	0	18,29	2,10	19,40
2	Début de mangrove	1,65	8,08	1,30	18,40
3	Mangrove	2,37	2,94	0,40	11,50
4	Mangrove à l'embouchure	3,65	2,98	0,70	2,30

Figure 51 : Évolution des concentrations en ammonium (ronds), nitrate (carrés) et nitrite (triangles) le long du canal pour les stations 1 (rouge), 2 (bleu), 3 (jaune) et 4 (vert) n=3.

Les concentrations maximales en ammonium sont mesurées à l'aval immédiat de la STEP (19,40 μM). Les concentrations diminuent d'amont en aval avec une diminution plus importante au niveau de la mangrove soit en fonction de la densité de cette dernière. Au niveau de l'embouchure, les concentrations mesurées sont de 2,30 μM. Ces concentrations sont très nettement inférieures à celles mesurées dans la Manche-à-Eau qui étaient de l'ordre de la centaine de micro molaires (section 3.1.4.1).

Tout comme pour l'ammonium, le maximum de concentration en nitrite et en nitrate est mesuré à l'aval immédiat des rejets de la STEP et une nette diminution est observée le long du profil en long (2,10 à 0,40 μM). Cependant cette tendance n'est pas vérifiée pour les concentrations en nitrate et nitrite des stations 3 et 4 pour lesquelles les valeurs sont plus faibles pour la station la plus en amont. Cette diminution pouvant être due à l'intrusion d'eau marine moins riche en ces éléments. De façon générale ces valeurs sont faibles et restent du même ordre de grandeur (quelques micro molaires) que celles généralement observées dans la colonne d'eau des mangroves (Woodroffe 1992; Alongi *et al.* 1998; Chen et Twilley 1999).

Les teneurs maximales obtenues à la station 1 sont vraisemblablement dues aux rejets de la STEP. La diminution des concentrations en ammonium et en nitrite ne s'accompagnant pas d'une augmentation des concentrations en nitrate, semble indiquer que le processus de nitrification ne s'opère pas dans ce secteur. La diminution des concentrations en nutriments azotés peut-être due à :

- La diminution de la surface agricole au profit des zones de mangrove ;
- La dilution par les eaux marines ;
- La consommation rapide par les micro-organismes et la végétation de ces éléments nutritifs (Lee *et al.* 2008; Kaiser *et al.* 2015) ;
- La diminution des concentrations en nitrite et en nitrate qui peut résulter de processus de réduction comme la dénitrification le long de corridor fluvial (Sebilo 2003).

En 2014, le nitrate était le composé azoté majeur mesuré suivit par l'ammonium et le nitrite. Pour l'ensemble des teneurs mesurées, les valeurs obtenues en 2014 sont supérieures à celles obtenues dans le cadre de cette thèse (Tableau 23). L'exploitation de la STEP semblait impacter les teneurs des éléments azotés contenus dans la colonne d'eau. En effet, en 2014 l'ancienne STEP était encore en service, ce qui pourrait expliquer les différences de teneurs observées entre les deux périodes et donc la meilleure efficacité de la nouvelle STEP. Les résultats obtenus sur les deux périodes montrent une dilution de la charge azotée dans la colonne d'eau le long du canal.

Au niveau de chaque zone d'échantillonnage de colonne d'eau, des sédiments ont été prélevés dans le but de déterminer leurs caractéristiques physico-chimiques et leur potentialité de réduction de l'azote nitrique.

5.3.1.2 Caractéristiques du sédiment

Les contenus en azote, en carbone total, en carbone dissous et en eau des sédiments de surface (0-2 cm) des quatre sites de prélèvement sont présentés dans la Figure 52.

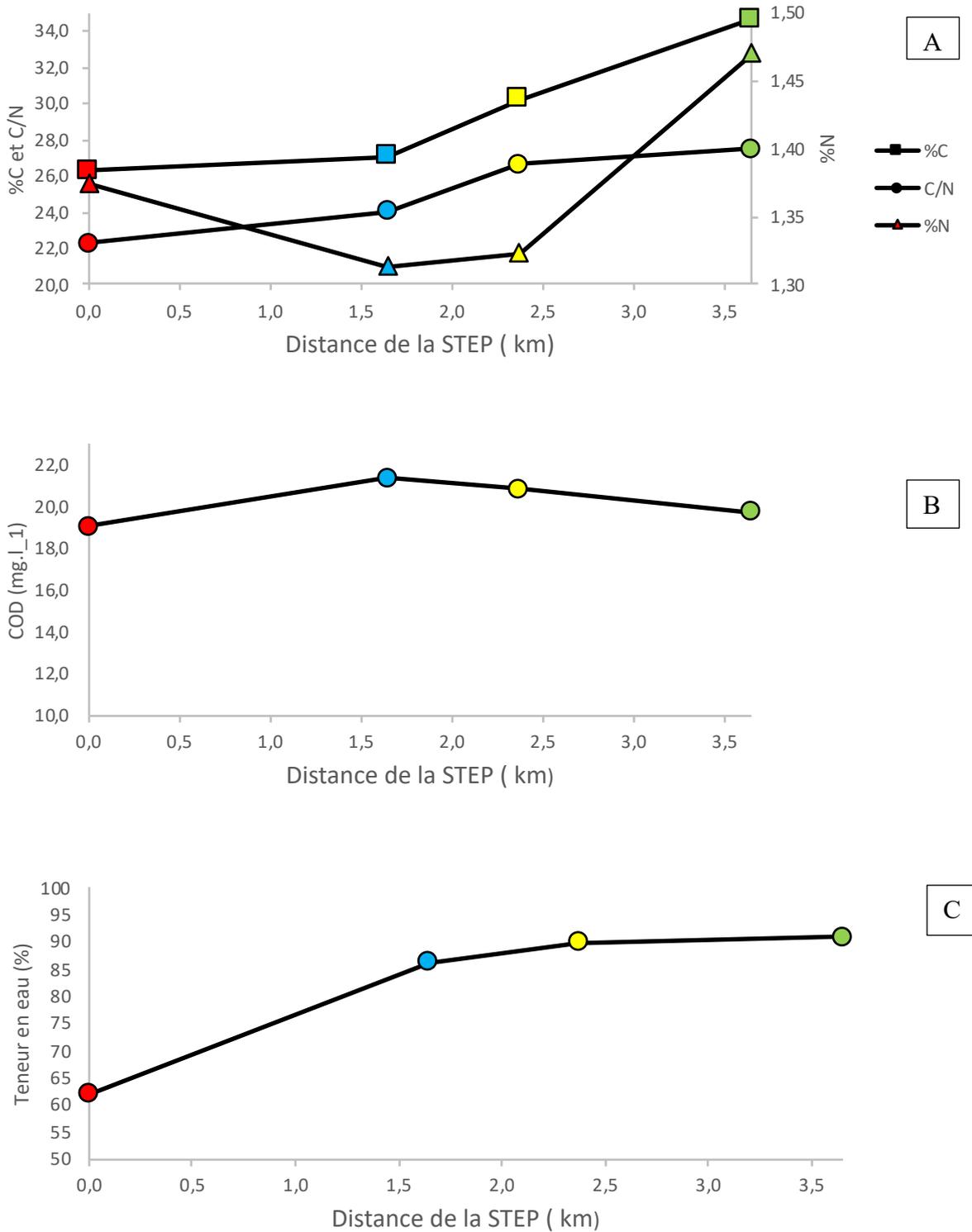


Figure 52 : Profils %C, %N, C/N (A), carbone organique dissou COD (B) et contenu en eau des sédiments (C) des stations 1 (rouge), 2 (bleu), 3 (jaune) et 4 (vert) de la STEP à l'embouchure du canal.

Les teneurs en carbone augmentent d'amont en aval (de 26,3% à 34,7% ; Figure 52A). Ces compositions en carbone organique sont légèrement au-dessus de la gamme de celles obtenues par Balk *et al.* (2015) qui étaient comprises entre 3,5 et 26 % pour des sédiments de mangroves

de Floride influencées par la marée. Dans l'étude de Balk *et al.* (2015), les différences entre les teneurs en carbone peuvent s'expliquer par la variation de l'usage du sol le long du profil étudié (Port, mangrove de frange maritime et mangrove de forêt intérieure), la végétation qui recouvre les sédiments (*Avicennia germinans* et *Rhizophora mangle*), et de la nature des sédiments dont la taille des particules de sol qui varie de 84 à 292 μm selon la distribution de volume DV50 sont autant de paramètres qui peuvent expliquer ces disparités dans les proportions de carbone contenues dans les sédiments. Comparativement, les variations du contenu en carbone des sédiments le long du Canal des Rotours sont moins importantes mais en lien avec la végétation et sa densité (Figure 54).

Alors qu'il a été démontré par ailleurs que les teneurs en COD varient le long de la zone intertidale, et en fonction du nombre de bactéries présentes, de leur productivité et de leur taux de croissance (Boto *et al.* 1989), aucun gradient n'est observé sur le profil en long (Figure 52B). Les valeurs oscillent entre 19,1 et 21,4 mg.l^{-1} et sont stables d'une station à l'autre. La présence du carbone ne semble pas être un paramètre discriminant pour l'activité des micro-organismes entre les stations.

Les quantités d'azote contenues dans les sédiments sont relativement stables d'une station à l'autre et varient de 1,3 à 1,4 %. Les valeurs de la Manche-à-Eau oscillant entre 0,71 et 0,83 % ; sont inférieures à celles mesurées au niveau du canal. Le contexte pédo-climatique étant le même pour les deux mangroves étudiées dans le cadre de cette thèse (section 1.2.1 Les mangroves en Guadeloupe), la nature des apports anthropiques au niveau du Canal des Rotours semblent avoir significativement modifié la nature du sédiment.

Les rapports C/N pour les quatre sites varient de 22,3 à 27,5 de l'amont vers l'aval. L'augmentation du ratio C/N associé à la stabilité du contenu en azote le long du canal est peut-être due à la rétention des dépôts organiques par les racines de palétuviers qui sont de plus en plus denses en allant vers la mer (Figure 52 A). Le contenu en eau des sédiments augmente le long du canal. Sur le terrain cela se traduit par des sédiments plus compacts à la station 1 plus pauvre en matière organique que les sédiments de mangrove plus limoneux (Figure 52 C). Au niveau de la Manche à eau les valeurs de C/N oscillaient entre 14,4 et 17,6 (Gontharet *et al.* 2017; Crémère *et al.* 2017). Le contenu en azote des sédiments de la Manche à Eau et du canal de Rotours étant stable d'un site à l'autre, les rapports C/N des sédiments plus élevés pour le canal des Rotours pourraient traduire une origine plus terrestre de ces sédiments (Lallier-Verges *et al.* 1997; Lamb *et al.* 2006).

Le $\delta^{15}\text{N}$ des sédiments diminuent le long du canal passant de 9‰ au niveau de la STEP à 1,2‰ au niveau de la station 4 (Figure 53). La valeur de $\delta^{15}\text{N}$ mesurée à l’aval immédiat des rejets de la STEP est très élevée et est du même ordre de grandeur que celui du NH_4^+ présent dans les eaux usées comme déjà observé dans d’autres modèles (Sebilo *et al.* 2006). L’hypothèse est que l’assimilation continue de NH_4^+ à $\delta^{15}\text{N}$ élevé provenant de la STEP enrichit à son tour le sédiment. L’impact des rejets est moins important à l’aval du fait de la dilution par les eaux marines et de la contribution de l’augmentation du couvert végétal sur le gradient amont-aval va faire diminuer le signal isotopique au sein des sédiments ($\delta^{15}\text{N}$ entre -10‰ et 0‰ pour le palétuvier rouge *R. mangle*). A noter qu’au niveau de la Manche à Eau, le $\delta^{15}\text{N}$ était de l’ordre de 3‰ ce qui serait en faveur de cette hypothèse (partie 3.1.1C). En effet, d’amont en aval, l’augmentation de la densité des palétuviers dont le $\delta^{15}\text{N}$ est faible contribuerait à la diminution du $\delta^{15}\text{N}$ des sédiments. Ces variations de $\delta^{15}\text{N}$ semblent donc indiquer un apport accru des zones transversales au corridor fluvial d’amont en aval.

Tout comme les C/N, les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ varient peu le long du profil en long sans tendance particulière, oscillant de -28,5 à -27,4‰ (Figure 53). Ces valeurs sont du même ordre que celles obtenues dans la Manche-à-Eau (valeurs comprises entre -26,4 et -24,4‰ (Gontharet *et al.*, 2016, Crémère *et al.*, 2017, chapitre 3 de ce travail).

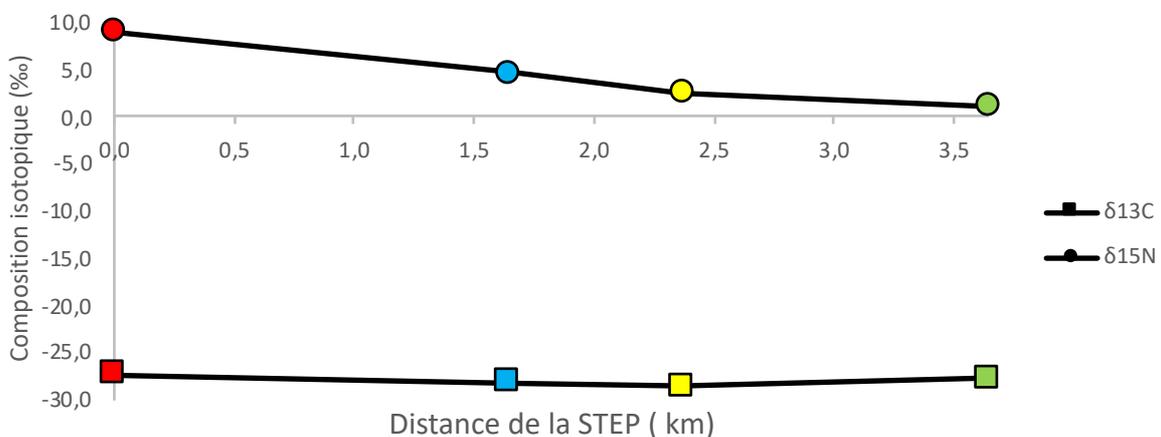


Figure 53 : Profils $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ des sédiments des stations 1 (rouge), 2 (bleu), 3 (jaune) et 4 (vert) de la STEP à l’embouchure du canal.

Comme introduit dans le chapitre 3, les isotopes stables du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et le rapport entre le carbone organique et l’azote total (C/N) permettent d’identifier l’origine de matière organique qui s’accumule dans les zones côtières. Cette méthode permet en particulier de différencier les types de plantes en C3 et C4 des matières organiques d’origines marines et d’eau douce

(Chmura et Aharon 1995; Lamb *et al.* 2006; Khan *et al.* 2015). La composition élémentaire et la signature isotopique du sédiment de mangrove peuvent donc fournir des indices sur l'origine de la matière organique qui le compose. La Figure 54 présente les valeurs obtenues pour le $\delta^{13}\text{C}$ des sédiments des stations 1 à 4 en fonction de leur rapport C/N.

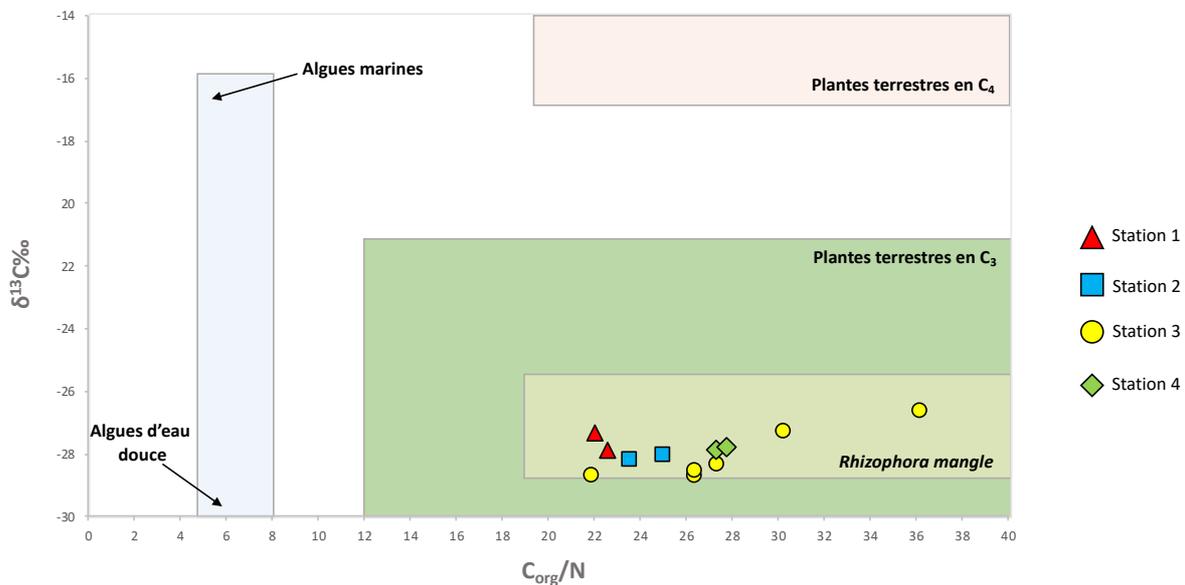


Figure 54 : Origine de la matière organique des sédiments des stations 1 à 4 déterminée en fonction du $\delta^{13}\text{C}$ en fonction du rapport C/N (n=2 pour les stations 1,2 et 4 et n=6 pour la station 3 saison humide 2016 et 2017). Les rectangles de couleurs indiquent les gammes de valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et $\text{C}_{\text{org}}/\text{N}$ rapportées dans la littérature (Lallier-Verges *et al.* 1997; Lamb *et al.* 2006).

Les rapports C/N de la végétation terrestre en C3 sont supérieurs à 12 car elle est composée principalement de lignine et de cellulose, pauvres en azote ; alors que les herbes en C4 ont typiquement des rapports C / N supérieurs à 30 (Lamb *et al.* 2006). Les valeurs de C obtenues associées aux valeurs de C/N suggèrent que la matière organique des quatre sites est dérivée de plantes terrestres en C3 (Lamb *et al.* 2006; Kristensen *et al.* 2008).

Ces valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ sont cohérentes avec la signature isotopique des palétuviers qui sont retrouvés sur la zone d'étude. En effet, les palétuviers de type *Rhizophora mangle* sont caractérisés par des feuilles dont le $\delta^{15}\text{N}$ varie entre -10 ‰ et 0 ‰, le $\delta^{13}\text{C}$ entre -28,3 ‰ et -25,3 ‰ (McKee *et al.*, 2002; Wooller *et al.*, 2003) et le rapport C/N entre 19-43 (Lallier-Verges *et al.*, 1997). La proximité des résultats obtenus avec les valeurs connues pour les palétuviers de type met l'accent sur le caractère peu dégradé de la matière organique au sein des 4 stations de prélèvement.

Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ diminuent le long du profil, avec une augmentation du C/N (Figure 55). Ces variations peuvent s'expliquer par un mélange entre un pôle de matière organique enrichi à l'aval immédiat des rejets de la STEP et un pôle appauvri au niveau de la zone d'influence des mangroves.

Cette représentation permet aussi de caractériser les variations de la composition des sédiments pour une même station. En effet pour les stations 1,2 et 4 bien que les répliquats aient été prélevés le même jour, l'analyse met en lumière des différences de composition. Pour la station 3 qui a fait l'objet de prélèvements à différentes dates, les différences de composition sont plus significatives d'un répliquat à un autre confirmant ainsi la variation de la composition des sédiments à l'échelle de microsites mais aussi à l'échelle temporelle. Ces différences de composition sont susceptibles d'engendrer des différences de réactivité des sédiments.

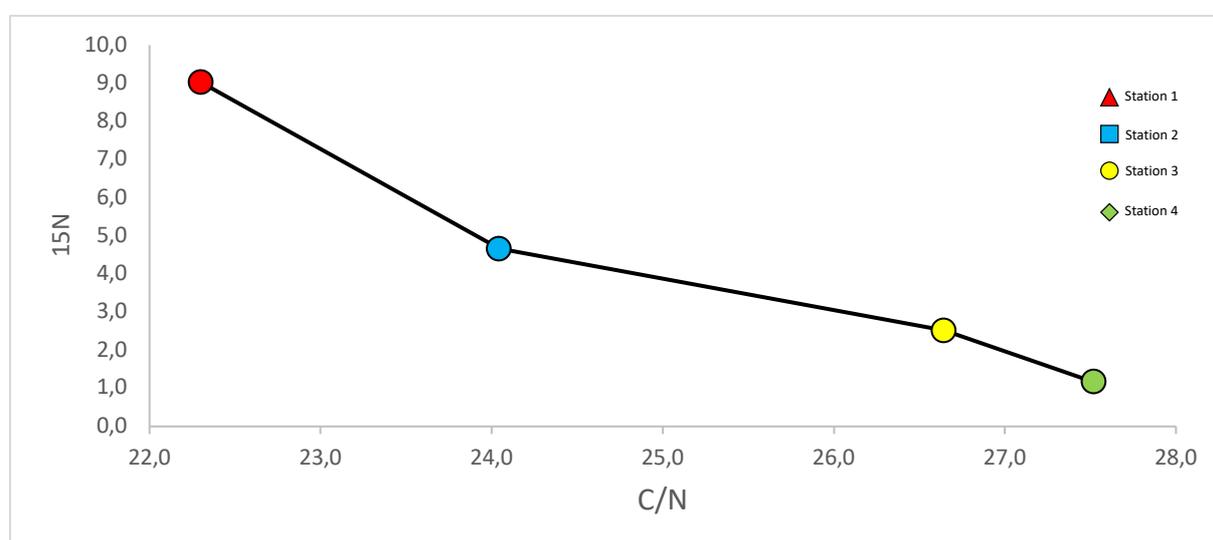


Figure 55 : Evolution du $\delta^{15}\text{N}$ en fonction du C/N pour les stations 1 à 4

L'analyse d'ensemble de ces éléments montre donc que les sédiments et la colonne d'eau situés à proximité de la STEP semblent être impactés par les rejets d'eaux usées. De plus les sédiments plus en l'aval semblent traduire l'impact accru des palétuviers dont la surface est de plus en plus dense le long du profil.

Le chapitre 4 a permis de déterminer que les caractéristiques biogéochimiques des sédiments de mangrove influencent les voies et les taux de réduction de nitrate. Après avoir constaté les disparités de répartition des éléments azotés dans la colonne d'eau et des différences sédimentaires entre les stations échantillonnées, l'objectif des parties suivantes est de rendre compte de la réactivité des sédiments vis-à-vis de la réduction du nitrate pour chaque des stations grâce aux expériences de réacteurs à flux continu.

5.3.2 Effet de l'ajout de nitrate sur les taux de réduction du nitrate potentiel du sédiment de mangrove ; variations des potentiels en fonction de la charge entrante.

Comme décrit dans la partie Matériels et Méthodes en page 80, les sédiments de surface (0-2cm de profondeur) des quatre stations de prélèvement ont été placés dans des réacteurs à flux continu en anaérobie. Afin d'évaluer la réactivité des sédiments le long du canal vis-à-vis de la réduction du nitrate, les sédiments ont subi 3 types de traitements comme présenté dans le (Tableau 24). Pour certains traitements, seuls les sédiments de la station 3 ont été incubés. Le choix de la station 3 a été fait car c'est la station pour laquelle les conditions sont le plus proches de celles de la Manche à eau à savoir une zone de mangrove marine influencée par la marée et non anthropisée.

Tableau 24 : Récapitulatif du traitement subit par les sédiments.

Expériences	Date	Station	Réacteurs				
			Traitements			Nb réacteurs	Durée
			Q _{moyen} (ml.h ⁻¹)	[NO ₃ ⁻] (mM)	Source de C		
[NO ₃ ⁻]	Sep 2016	1	2.9	0.6-1.4-3.0-6.0	-	8	48 h
	Sep 2016	2	2.7	0.7-1.5-3.2-5.9	-	8	
	Nov 2016	3	2.7	0.7-1.6-3.0-6.0	-	8	
	Déc 2016	4	2.9	0.7-1.9-3.1-6.0	-	8	
Ajout de C	Oct 2017	3	2.7	6.2	-	2	102 h
			2.8	6.3	Feuilles jaunes	2	
			2.5	6.3	Feuilles vertes	2	
			2.8	6.2	Acétate 2mM	2	
Débits	Août 2017	3	0.5	6.1	-	2	48 h
			1.2	5.9	-	2	
			2.7	6.2/6.3	-	4	
			6.2	5.9	-	2	
			9.8	6.3	-	2	

Les sédiments des 4 stations ont été incubés avec 4 solutions nourrices (de 0,6 à 6 mM) et pour un débit de 3 ml.h⁻¹ (Tableau 24).

Les expérimentations en réacteur réalisées avec une concentration en entrée de nitrate de 6mM et 1,5mM, en anaérobie conduisent à une diminution significative et continue dans le temps des concentrations en sortie de réacteur (Figure 56).

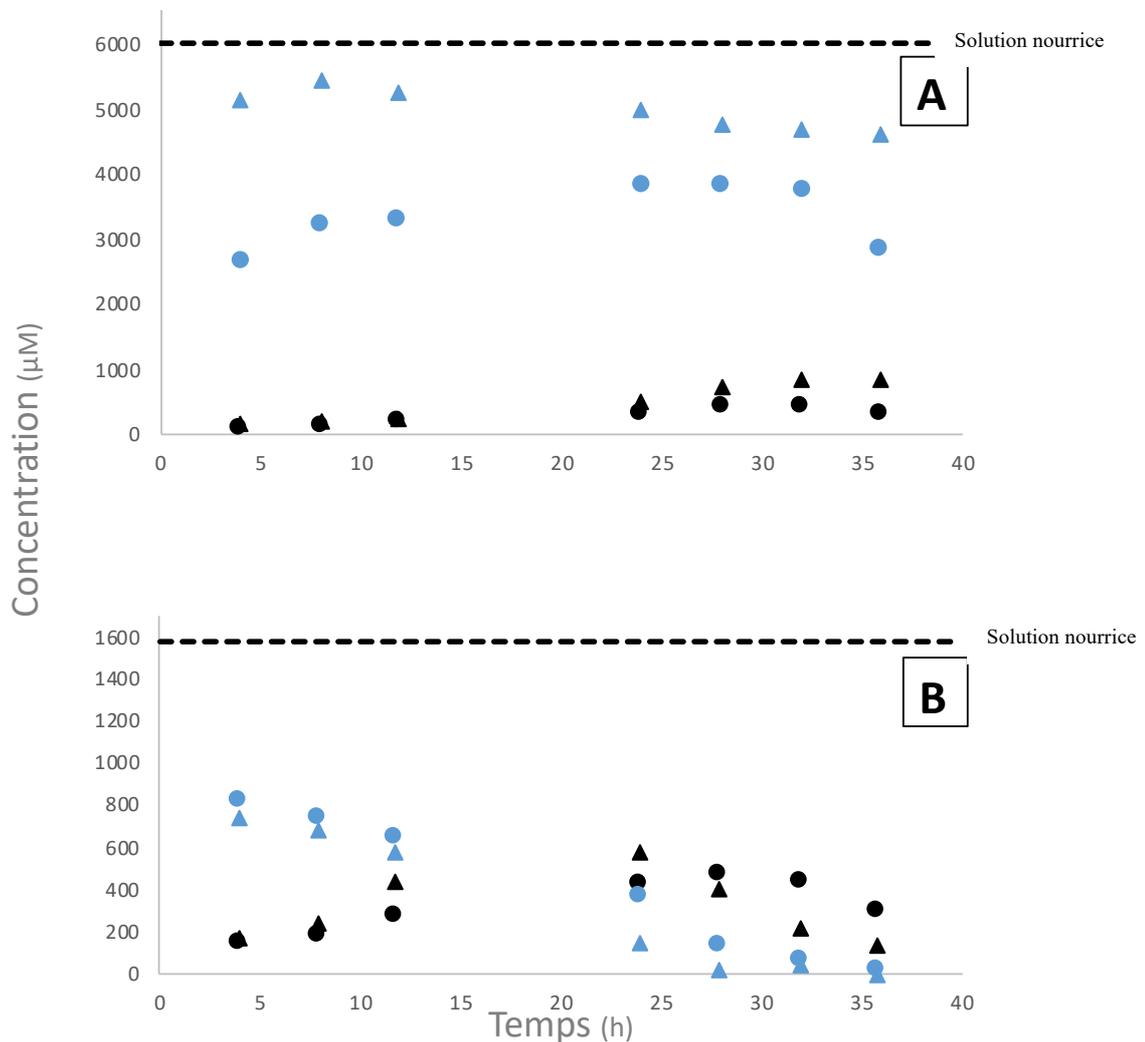


Figure 56 : Évolution des concentrations en nitrate (bleu) nitrite (noir) dans les solutions de sortie de réacteur au cours du temps au niveau de la station de prélèvement 3. Les concentrations des solutions nourrices sont représentées par les lignes en pointillé noir [6000 µM (A) et 1500 µM (B)]. Les valeurs de chaque réacteur (réplica) sont présentées réacteur 1 (triangles) et réacteur 2 (cercles).

La diminution des concentrations en nitrate s'accompagne également d'une augmentation de la concentration de nitrite et d'une production en ammonium (résultats non présentés dans la Figure 56).

Initialement absents de la solution nourrice, ces deux composés sont produits au sein des réacteurs. Les tendances suivies par les teneurs en nitrite au cours du temps semblent être dépendantes des concentrations en nitrate de la solution nourrice. Compte tenu des conditions de l'expérience (anaérobie), il ne peut y avoir d'oxydation de l'ammonium qui se serait produit par nitrification. Par conséquent, les nitrites détectés proviennent exclusivement de la réduction

des nitrates. Cette production de nitrite est croissante au cours du temps dans les réacteurs soumis à des concentrations élevées alors qu'aux concentrations plus faibles on observe une forte production puis une diminution des concentrations. Les concentrations mesurées sont relatives à la production nette de nitrite soit la résultante entre la production de nitrite obtenue par réduction du nitrate et la consommation de nitrite par réduction. La production d'ammonium sera discutée plus tard dans le chapitre.

Afin d'évaluer les capacités d'élimination du nitrate par les sédiments marins de mangrove le long du canal, les concentrations mesurées à l'équilibre en sortie de réacteur ont été utilisées pour calculer les taux de réduction de nitrate (Nrr) et les taux de production d'ammonium (Apr) et de nitrite (Nipr) à l'aide de l'Equation 7 présentée en section 2.4.1.

La Figure 57 présente les taux de réduction de nitrate pour l'ensemble des stations échantillonnées en fonction des concentrations de nitrate fournies par la solution nourrice.

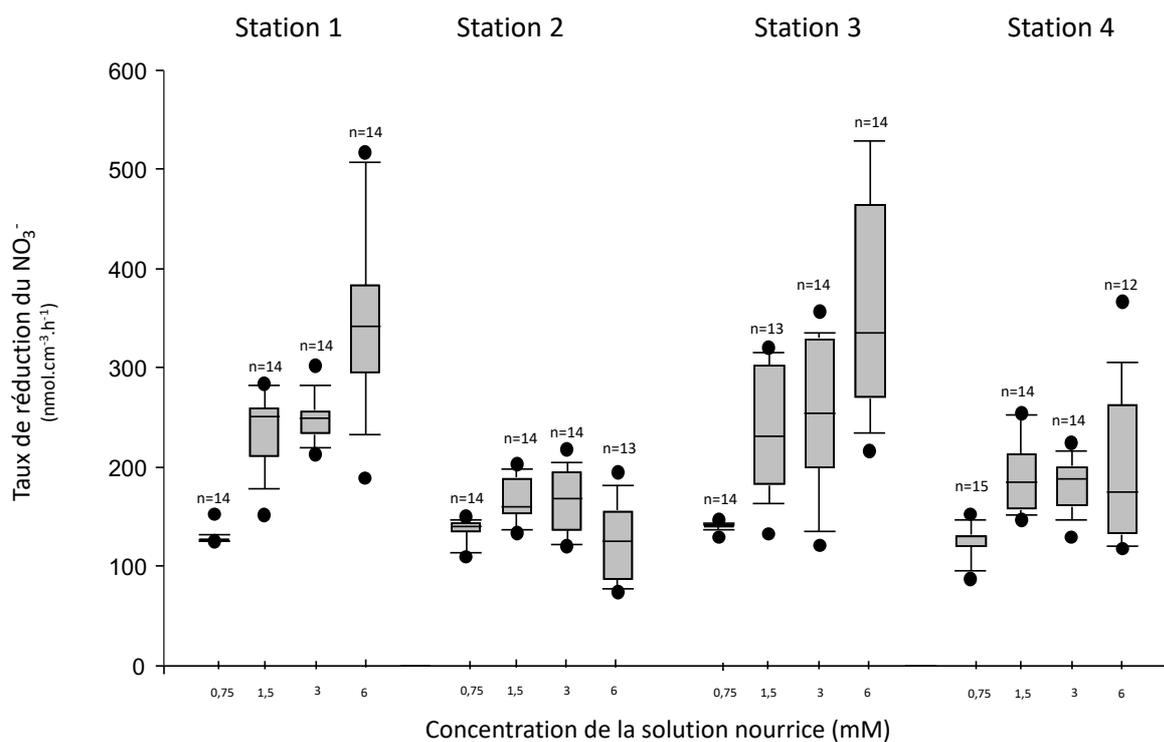


Figure 57 : Box-plot de l'effet de l'ajout de nitrate sur les taux de réduction de nitrate déterminés par la méthode des réacteurs à flux continu après l'incubation des sédiments des stations 1 à 4. Dans l'expérience les sédiments ont été soumis à des solutions nourrices de concentrations en nitrate de 0.75, 1.5, 3 et 6 mM. Les boîtes englobent les quartiles supérieur et inférieur. Les points indiquent les valeurs extrêmes tandis que les lignes horizontales correspondent aux valeurs médianes des taux de réduction.

Les taux potentiels de réduction du nitrate varient en fonction des concentrations en nitrate fournies par la solution nourrice. Pour une concentration de nitrate en entrée de 0,75μM, les

taux de réduction de nitrate sont respectivement de 128,2 et 139,7 $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$ pour les stations 1 et 3, ces taux atteignent les valeurs de 348,1 et 386,8 $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$ à 6 mM (Tableau 25). Pour ces deux zones de prélèvement, plus la solution nourrice est concentrée en nitrate plus les taux de réduction potentielle augmentent.

Tableau 25 : Moyenne des taux de production d'ammonium et de nitrite et taux de réduction de nitrate pour les quatre stations en fonction des différentes concentrations de nitrate fournies par la solution nourrice au sédiment pour chaque réacteur et carbone organique dissous libéré au cours des incubations.

Stations	Localisation	[NO ₃ ⁻] Solution nourrice μm	Taux de réduction du nitrate		Taux de production du nitrite		Taux de production d'ammonium	
			nmol.cm ⁻³ .h ⁻¹	Ecart-type	nmol.cm ⁻³ .h ⁻¹	Ecart-type	nmol.cm ⁻³ .h ⁻¹	Ecart-type
1	Step	625	128,2	7,1	9,5	4,0	44,7	19,8
		1356	236,8	39,8	117,9	28,5	32,5	12,6
		3000	247,0	24,0	98,1	12,3	29,9	17,8
		6000	348,1	89,3	164,0	53,8	28,0	14,5
2	Début de mangrove	751	134,9	12,2	4,3	3,6	18,3	4,1
		1515	166,3	23,7	5,7	3,5	16,7	5,0
		3167	167,2	31,7	2,3	0,7	8,7	4,6
		5945	125,1	39,6	8,9	5,4	23,9	13,2
3	Mangrove	706	139,7	4,4	13,0	9,3	66,5	10,4
		1580	252,1	60,6	65,8	29,4	68,3	12,0
		3000	254,1	78,4	61,1	43,6	98,6	36,4
		6000	386,8	194,8	77,4	52,2	79,6	24,0
4	Mangrove à l'embouchure	666	124,6	17,5	4,5	2,9	47,1	10,0
		1909	188,0	37,1	18,0	18,5	34,5	7,6
		3065	181,3	27,5	46,4	16,1	56,2	12,1
		6000	201,1	81,2	62,2	9,8	48,0	10,4

L'augmentation des teneurs en nitrate semble très peu affecter les taux de réduction des sédiments de la station 2. Il y a une faible dispersion des données en fonction des concentrations d'entrées. Le taux de réduction de nitrate de la station 2 est trois fois inférieur à celui de la station 3 pour la même concentration d'entrée de nitrate (6 mM). Pour la station 4, cette augmentation est plus légère, les taux potentiels de réduction moyens passent de 142,6 à 201,1 $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$ entre la plus faible et la plus forte concentration de nitrate fournie par la solution nourrice. L'hétérogénéité des valeurs des taux de réduction atteintes d'un site à un autre suggère que certaines zones de mangrove sont plus aptes que d'autres à répondre à l'enrichissement de nitrate. La distribution des taux de réduction en fonction des différentes stations montre que ces derniers dépendent des sites de prélèvement. En effet, les taux de réduction de nitrate varient en fonction des sites de prélèvements exceptée pour la concentration d'entrée la plus faible (~750μM). A cette concentration, les taux varient de 128,2 à 139,7 $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$. Cette faible dispersion des taux en fonction des sites de prélèvement est expliquée par le fait qu'à cette concentration, la presque totalité du nitrate a été éliminée par les sédiments des quatre stations. Les valeurs de taux obtenus à cette concentration

correspondent donc aux taux potentiels minimaux mesurables par cette expérience en réacteur à flux continu. La disponibilité du carbone limite les taux potentiels de réduction du nitrate (Pulou *et al.* 2012; Shiau *et al.* 2016). Cependant comme présenté dans la Figure 52, les sédiments des quatre sites ont la même origine et possèdent des contenus en azote et carbone organique proches.

Compte tenu de l'augmentation des rapports C/N de la STEP à l'embouchure et des quantités de carbone dissout libérés par les sédiments qui varient peu le long du canal (de 19,1 à 21,4 mg.l⁻¹), les taux de production du nitrate devraient eux aussi augmenter le long du profil en long et être maximum à l'aval où le carbone y est plus disponible. En réalité, les taux de réduction les plus élevés sont observés aux stations 1 et 3 pour lesquelles les concentrations en COD sont les plus faibles. Dans les sédiments de mangrove la quantité de carbone disponible est négativement corrélée avec la salinité (Xiong *et al.* 2018) et une élévation de la salinité peut réduire à la fois l'activité et l'abondance des communautés microbiennes réductrices de nitrate (Wang *et al.* 2018) ce qui expliquerait les taux plus faibles à l'embouchure.

Aux vues des disparités spatiales entre les quatre sites, ces résultats suggèrent que d'autres paramètres environnementaux sont susceptibles de faire varier le potentiel de réduction. Même si aucune donnée n'est disponible à ce sujet, il est possible de supposer que différentes communautés microbiennes se soient développées en fonction des caractéristiques environnementales propres à chaque zone et que le nombre et les types de bactéries susceptibles de réduire le nitrate soit plus grand aux stations 1 et 3 qu'aux stations 2 et 4. Selon certaines études, l'efficacité de la réduction du nitrate d'un site à l'autre peut être dépendante de la distribution, de la diversité et de l'importance de l'activité des communautés bactériennes présentes dans les sédiments (Jacinthe et Groffman 2006; Gardner et White 2010; Yang *et al.* 2012). Si des différences entre les populations bactériennes étaient avérées (en nombre et en diversité d'espèces), ces paramètres pourraient partiellement expliquer les différences de taux de réductions entre les quatre stations. Cependant l'étude de l'abondance du gène dénitrifiant (NosZ) et de l'activité dénitrifiante par Oliveira Fernandes *et al.* (2012) sur les sédiments de deux mangroves indiennes indique que les taux de dénitrification ne semblent pas être limités par la présence des populations susceptibles de dénitrifier mais par la disponibilité du nitrate en tant que substrat.

L'étude de l'influence du substrat et des caractéristiques des sédiments ne suffisent pas à elles seules pour conclure sur l'origine exacte des variations des taux de réductions d'un site à l'autre

sur le Canal des Rotours. Dans cette expérience les caractéristiques sédimentaires comme la taille de grain, la température la salinité et le potentiel redox *in situ* n'ont pas été étudiés alors qu'ils sont susceptibles d'influencer la capacité des sédiments de mangrove à réduire le nitrate (Allen *et al.* 2007; Vymazal 2007; Shiao *et al.* 2016).

Dans leur globalité, les taux de réduction potentielle atteints dans le Canal des Rotours sont comparables à ceux obtenus par Balk *et al.* (2015) sur des sédiments de mangrove marine de Floride. Après avoir été soumis à une concentration de 4 mM en nitrate par le biais de réacteurs à flux continu, le sédiment provenant de Floride a présenté des taux de réduction de nitrate de 479 nmol.cm⁻³.h⁻¹. Comparativement, le taux moyen obtenu dans la zone de mangrove du Canal des Rotours au niveau de la station 3 était de 386,8 nmol.cm⁻³.h⁻¹. Concernant les résultats obtenus au niveau de la Manche à eau, pour une solution nourrice de 5mM la moyenne des taux de réduction de nitrate étaient de 147,8 nmol.cm⁻³.h⁻¹ pour les sédiments hors tapis microbien, de 188,9 nmol.cm⁻³.h⁻¹ dans les sédiments sous tapis microbien et de 634,6 nmol.cm⁻³.h⁻¹ pour les réacteurs incubés avec du sédiment sous tapis microbien et recouvert de tapis microbien. Malgré un contexte pédoclimatique similaire, les différences de réactivités sont notables pour les sédiments du canal et de la Manche à Eau. Les différences observées dans la nature des sédiments ne permettent pas à elles seules d'expliquer les variations des taux de réduction (Tableau 26). Les sédiments de la station 3 du canal des Rotours sont plus riches en azote que les sédiments de la Manche à Eau avec un $\delta^{15}\text{N}$ plus faible. Pour le carbone, les contenus sont similaires dans les sédiments des deux zones échantillonnées alors que $\delta^{13}\text{C}$ est nettement plus appauvri pouvant exprimer une origine de la matière organique différente. Les sédiments de la station 3 ont été soumis au rejet de la STEP, ce qui n'est pas le cas des sédiments de la Manche à Eau localisée dans une zone peu impactée par l'activité humaine. Les taux plus élevés pouvant être dus à la présence d'une communauté bactérienne adaptée à des charges azotées plus élevées.

Tableau 26 : Récapitulatif des caractéristiques des sédiments de la Manche à eau (sous et hors tapis microbien) et du Canal des Rotours (station 3).

Type de sédiment	Profondeur	%N	%C	C/N	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
	cm	%poids	%poids	atome/atome	‰	‰
Sous tapis microbien	0-6	0,83	25,36	26,35	-21,0	3,0
Hors tapis microbien	0-6	0,71	33,35	40,55	-13,3	3,0
Station 3	0-2	1,32	30;22	26;65	-28,54	2,52

5.3.2.1 Production du nitrite et de l'ammonium

Lors de la réduction du nitrate, en fonction des voies métaboliques d'élimination plusieurs métabolites sont produits. Dans le cadre de ces deux expériences, une production de nitrite et d'ammonium ont été mesurées en sortie de réacteur. Les taux de production de nitrite et des sédiments prélevés au Canal des Rotours pour toutes les stations et aux 4 concentrations de nitrate étudiées sont présentés dans le Tableau 23.

Les taux de production de nitrite varient de 2,3 à 164 $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$. Le taux maximal est atteint à la plus forte concentration de nitrate en solution nourrice au niveau de la station la plus proche de la STEP (station 1). Les taux varient d'une station à l'autre. Ainsi, plus la concentration en nitrate de la solution nourrice augmente et plus la production de nitrite semble augmenter ce contrairement à la production d'ammonium.

Les taux de production d'ammonium sont supérieurs aux taux de production de nitrite (sauf à la station 1) et varient de 8,5 à 98,6 $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$. La faible production de nitrite associée à la production simultanée d'ammonium peut être due à la présence de micro-organismes réducteurs de nitrates. Ces micro-organismes en condition limitée en nitrate sont susceptibles d'utiliser le nitrite comme accepteur d'électron alternatif pour la dégradation de la matière organique (Simon 2002; Streminska *et al.* 2012; Balk *et al.* 2015). La production d'ammonium peut aussi être due à la minéralisation de la matière organique (chapitre 4).

De par la proximité de la station 1 à la STEP, les micro-organismes présents sont moins limités en nitrate avec une concentration de 18,3 μM dans la colonne d'eau contre 3 μM à l'embouchure. Étant moins limité en nitrate à cette station, le nitrite produit n'est pas consommé ceci pourrait expliquer les taux de production de nitrite plus importants à cette station comparativement aux autres sites échantillonnés.

L'intérêt pour la capacité de réduction du nitrate des sédiments de mangrove est grandissant et a fait l'objet de nombreuses études menées en majeure partie sur des mangroves dites terrestres (Chiu *et al.* 2004; Fernandes *et al.* 2010; Herteman 2010; Amano *et al.* 2011; Fernandes *et al.* 2012b; Cao *et al.* 2016; Shiau *et al.* 2016). Tout comme ce qui a été observé dans le cadre du chapitre précédent, la diminution des concentrations de nitrate associée à la production de nitrite et d'ammonium indique que les sédiments de mangrove marine étudiés sont aussi susceptibles d'éliminer le nitrate.

Deux voies principales de réduction dissimilative du nitrate ont été identifiées dans les sédiments anoxiques : la dénitrification par laquelle le nitrate et le nitrite vont être réduit en oxyde nitreux ou en diazote et la réduction dissimilative du nitrate en ammonium, DNRA, qui va produire de l'ammonium par réduction du nitrate et/ou du nitrite (Balk et al., 2015; Brunet et Garcia-Gil, 1996; Burgin et Hamilton, 2007; Cao et al., 2016; Giblin et al., 2013; Hardison et al., 2015). Contrairement au nitrite qui peut uniquement provenir de la réduction du nitrate dans le cadre de cette expérience, la production d'ammonium peut aussi être due à la minéralisation de la matière organique (Jacinthe et Groffman 2006; Enrich-Prast *et al.* 2016). L'ammonium et le nitrite sont donc des produits et des intermédiaires réactionnels dont la présence et la proportion dans le milieu dépendent de la capacité de la flore microbienne présente à respirer le nitrate. L'évaluation des quantités d'azote susceptibles d'être éliminées ainsi que l'identification des voies métaboliques de réduction varient d'une étude à l'autre. Cette aptitude à éliminer le nitrate est influencée par différents facteurs tels que les teneurs en nitrate, la nature et la disponibilité de la matière organique et le lieu de prélèvement. Ainsi alors que Chiu *et al.* (2004) indiquent que dans les mangroves 55 % à 76 % de la perte de l'azote se fait par dénitrification, Fernandes et al. (2012) évaluent à 99 % la part de DNRA dans les sédiments. Les taux de production en ammonium et de nitrite obtenus dans cette partie suggèrent qu'une partie du nitrate éliminé n'est pas totalement transformé en N₂ et que les processus de dénitrification incomplète, de DNRA et de minéralisation de la matière organique peuvent avoir lieu simultanément dans les sédiments. Les conditions appliquées aux réacteurs ne permettent pas de proposer une hypothèse sur la présence du processus d'anammox dans les sédiments étudiés soit l'oxydation anaérobie de l'ammonium. En effet en cas d'anammox une consommation de nitrite et d'ammonium serait observée, la mesure des taux de production nette ne permet donc pas cette différenciation entre consommation et production.

5.3.2.2 Cinétiques de réduction potentielle maximale du nitrate

Afin de déterminer les paramètres cinétiques et les taux potentiels maximum de réduction du nitrate pour l'ensemble des stations, les taux de réduction du nitrate sont présentés en fonction des concentrations de nitrate de la solution nourrice dans la Figure 58. Plus la concentration en nitrate augmente et plus les taux de réduction augmentent. Cette augmentation est décrite par la cinétique de Michaelis-Menten qui permet de déterminer à partir des taux de réduction de nitrate mesurés à l'état d'équilibre au cours des expériences les taux maximaux de réduction potentielle R_{max} et les concentrations de demi-saturation (K_m). Les valeurs de R_{max} obtenues

dans les expériences de réacteurs à flux continu correspondent à l'activité maximale de réduction des nitrates que les populations microbiennes du sédiment peuvent éliminer compte tenu de la disponibilité et de l'abondance du donneur d'électron (Laverman *et al.* 2006). Dans le cadre de cette étude, les taux correspondent donc à l'activité de réduction de nitrate quand les quantités de nitrate sont non limitantes et lorsque ce dernier est le seul accepteur d'électron disponible.

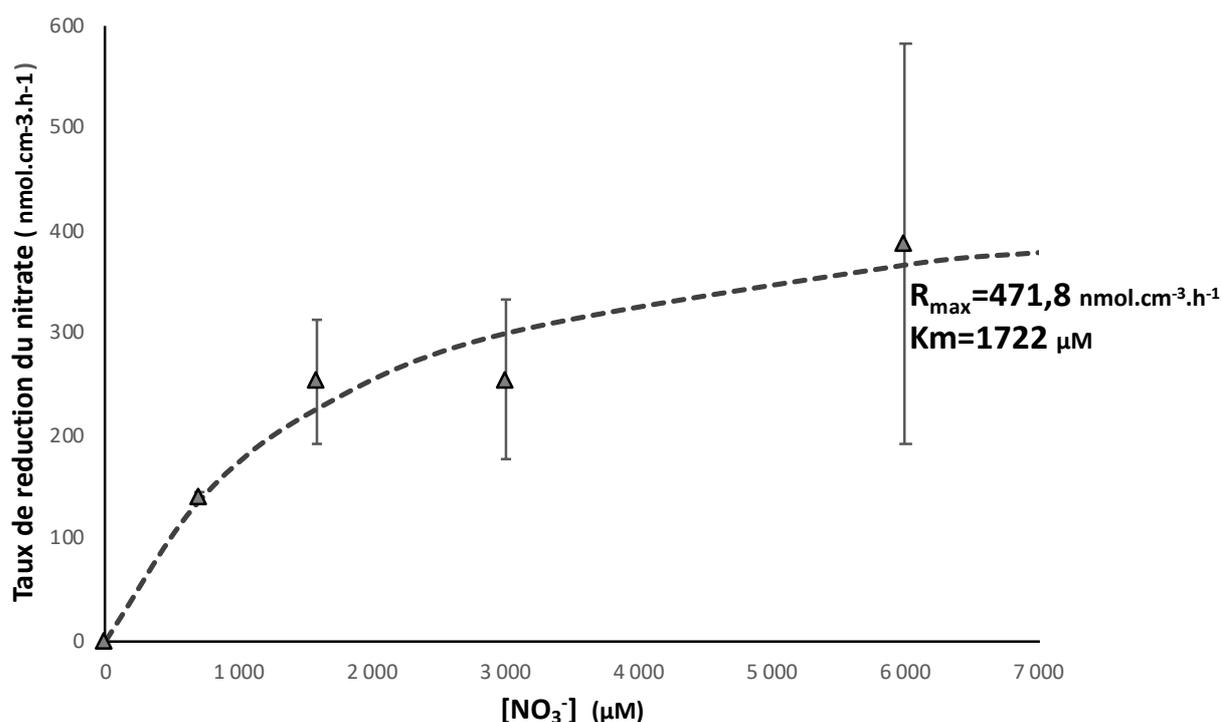


Figure 58 : Taux de réduction du nitrate mesurés dans les réacteurs de la station 3 en fonction des concentrations de nitrate fournies par la solution nourrice. La ligne pointillée correspond aux ajustements des taux obtenus par l'expression de Michaelis-Menten avec les taux obtenus expérimentalement. Les barres d'erreur indiquent l'écart-type des taux après que les concentrations de nitrate aient atteint l'état d'équilibre.

Comme présenté dans la figure ci-dessus, il n'y a pas de tendance claire suivie par les deux paramètres cinétiques étudiés le long du Canal des Rotours. Les R_{max} diffèrent d'un site à l'autre et varient entre 185,4 à 471,8 $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$ pour des valeurs de K_m qui elles varient de 255,4 à 1722 μM (Tableau 24).

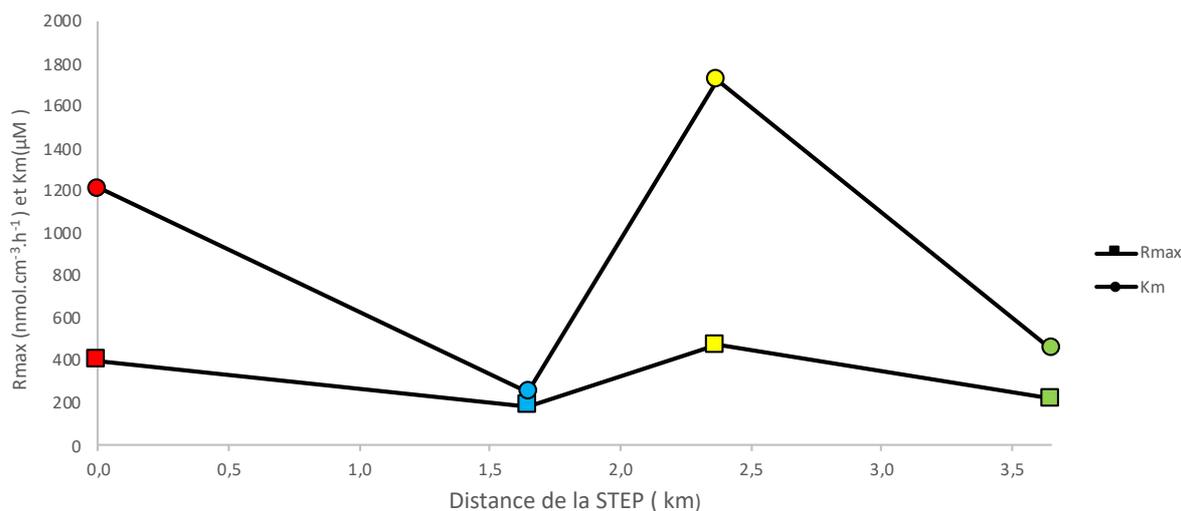


Figure 59 : Valeurs des R_{max} et K_m pour les stations 1 (rouge), 2 (bleu), 3 (jaune) et 4 (vert) de la STEP à l'embouchure du canal.

Pour l'ensemble des quatre stations les valeurs de K_m déterminées sont toutes supérieures aux concentrations de nitrate mesurées dans la colonne d'eau ce qui signifie que les taux de réduction de nitrate sur site sont limités par la disponibilité du nitrate *in situ*. Les populations microbiennes réductrices de nitrate présentes dans les sédiments s'adaptent rapidement aux changements environnementaux imposés de l'extérieur, y compris aux variations du substrat. Dès 1975, Nedwell démontre que les populations bactériennes des sédiments soumis à des rejets d'égouts étaient cinétiquement plus efficaces dans la réduction du nitrate que celles issues de sédiments moins pollués ($R_{max} = 3,65 \text{ mg atoms NO}_3^- \cdot \text{Nm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ pour les sédiments pollués contre 1,09 pour ceux qui ne le sont pas). Ceci pourrait expliquer les valeurs de R_{max} et K_m obtenues à la station de prélèvement à proximité de la STEP vis-à-vis de ceux atteints aux stations 2 et 4, car c'est cette dernière qui est directement soumise aux rejets de nitrate. Les hauts potentiels de réduction de nitrate sont donc relatifs aux forts apports d'azote.

Les valeurs K_m apportent des informations sur la communauté bactérienne présente dans le sédiment. Le K_m définit la concentration en substrat à laquelle la moitié des sites actifs enzymatiques est occupée. En d'autres termes, plus le K_m est élevé et plus l'affinité de la communauté bactérienne présente pour le substrat est faible. Ainsi les hautes valeurs de K_m des stations 1 et 3 indiquent que la communauté bactérienne présente à ces deux stations est hétérogène et comprend des organismes qui ont de fortes et de faibles affinités pour le nitrate (Pallud et al., 2007). Les valeurs de K_m faibles correspondent à une communauté de bactéries réductrices de nitrate plus spécialisées et présentant une affinité plus élevée pour le nitrate. L'activité enzymatique maximale est donc rapidement atteinte aux stations 2 et 4, ce qui

signifie que ces stations sont donc peu influencées par les changements de concentrations de nitrate.

Les paramètres cinétiques obtenus sont cohérents avec les valeurs obtenues dans d'autres mangroves et zones côtières (Tableau 27), cependant il est nécessaire de prendre des précautions afin de comparer les paramètres cinétiques obtenus selon différentes approches expérimentales. Comme les réacteurs à flux continu préservent la structure du sédiment, les distributions spatiales des particules et des populations de micro-organismes, les paramètres cinétiques obtenus avec cette approche sont susceptibles d'être plus représentatifs de l'activité potentielle *in situ* (Laverman *et al.* 2006; Pallud *et al.* 2007). Les valeurs de R_{max} obtenues au niveau du canal des Rotours sont inférieures à celles obtenues dans les sédiments recouverts par des tapis microbiens au niveau de la Manche à Eau et sont légèrement supérieures ou du même ordre de grandeur, que celle qui a été obtenue pour les sédiments ne présentant pas de tapis microbien riche en *Beggiatoaceae* en surface. Ces résultats confirment bien que le tapis microbien influence les cinétiques d'élimination du nitrate dans les sédiments de mangrove.

Tableau 27 : Taux potentiels de réduction max du nitrate obtenus à l'équilibre (R_{max}), taux de réduction de nitrate (NRR) et les concentrations de demi-saturation (K_m) obtenues pour la dénitrification (1) et la réduction de nitrate (2).

R_{max} ou NRR* ($\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$)	K_m (μM)	Type de sédiment	Méthode	Localisation	Référence
397,9	1211,9	Berge de canal en sortie de STEP milieu marin	FTR	Canal des Rotours (Guadeloupe)	Cette étude (2)
185,4	255,4	Début de mangrove marine	FTR		Cette étude (2)
471,8	1722,0	Mangrove marine	FTR		Cette étude (2)
217,4	457,9	Mangrove marine à l'embouchure	FTR		Cette étude (2)
1625,6-1566,3	7679,5-7880	Mangrove marine présentant un tapis microbien	FTR		Manche à eau (Guadeloupe)
227,2	906,3	Mangrove marine	FTR		Cette étude (2)
422-535*	-	Mangrove marine	FTR	Hutchinson Island (USA)	(Balk <i>et al.</i> 2015)(2)
368-391	-	Mangrove sur coraux altérés	FTR	Arabie Saoudite	(Balk <i>et al.</i> 2015)(2)
172,3	3,2	Mangrove côtière à proximité d'un rejet d'égout	Batch	La Parguera (Puerto Rico)	(Corredor et Morell 1994)(1)
12-25	228-1428	Marins côtiers	Incubation de carotte et de boues	Côte méditerranée (France)	(Raymond <i>et al.</i> 1992) (1)
274-933	250-800	Intertidaux	FTR	Appels (Belgique) Waarde (Pays-Bas)	(Laverman <i>et al.</i> , 2006)(1)+(2)

Comme indiqué dans le Tableau 27, les taux de réduction maximum atteints au niveau du Canal des Rotours (stations 1 et 3) sont comparables à ceux obtenues par Balk *et al.* (2015). Dans le cadre de cette étude, deux types de mangroves ont été étudiées : des sédiments de mangrove prélevés en Floride au niveau de mangroves de bordure maritime et forestière et des sédiments prélevés au niveau de deux mangroves installées à proximité d'un récif corallien en Arabie Saoudite. Les mangroves de Floride sont colonisées par le même type de palétuviers que ceux retrouvés le long du Canal des Rotours à savoir *Rhizophora mangle* en bordure maritime et *Avicennia germinans* dans la partie intérieure de la mangrove dite "forestière". La végétation retrouvée au niveau des zones de prélèvements en Arabie Saoudite est quant à elle constituée uniquement d'*Avicennia marina*. Les taux de réduction de nitrate ont été mesurés à l'aide de réacteurs à flux continu aux températures relevées *in situ* lors des prélèvements de sédiment soit 21°C pour les sédiments de Floride et 30°C pour les sédiments d'Arabie Saoudite. Les conditions environnementales telles que les différentes salinités (Floride > Arabie Saoudite > Guadeloupe), les variations d'amplitude des températures annuelles des sites de prélèvement (Arabie Saoudite > Floride > Guadeloupe) ainsi que les différences dans les teneurs en carbone organique des sédiments (Guadeloupe > Floride > Arabie Saoudite) peuvent expliquer les différences entre les taux de réduction du nitrate même s'ils sont du même ordre de grandeur.

Les mangroves sont situées à l'interface entre le milieu marin et le milieu terrestre, néanmoins les taux obtenus au niveau du Canal des Rotours sont au minimum 7 fois supérieurs à ceux obtenus par Raymond *et al.* (1992) sur des sédiments marins prélevés au niveau de la côte méditerranéenne (Tableau 24). Pour ces sédiments, le contenu en carbone organique (soit une moyenne de 2,9 % du poids sec) est inférieur à celui des sédiments de mangrove. Ces différences de teneurs pourraient justifier les écarts entre les taux potentiels de réduction car la disponibilité du carbone organique est un facteur déterminant dans l'élimination du nitrate (Herbert, 1999; Pulou *et al.*, 2012; Woltemade et Woodward, 2008). De plus, la consommation du nitrate par les sédiments est positivement corrélée avec la température (Chen *et al.*, 2017; Laverman *et al.*, 2006; Shiao *et al.*, 2016; Willems *et al.*, 1997). Il est donc cohérent que les sédiments prélevés en Guadeloupe (température moyenne annuelle de 27°C) et incubés à température ambiante du laboratoire (soit entre 25 et 30°C) éliminent plus le nitrate que les sédiments prélevés au niveau de la Mer Méditerranéenne à des températures comprises entre 10 et 15°C et ceux incubés à 22°C.

La salinité affecte aussi les processus d'élimination du nitrate (Rysgaard *et al.* 1999; Giblin *et al.* 2010). L'activité dénitrifiante est négativement corrélée avec la salinité (Shiao *et al.* 2016),

ce qui suppose que les taux potentiels de réduction seront plus élevés dans les sédiments d'eau douce que dans les sédiments marins. Les taux potentiels maximum atteints par Laverman *et al.* (2006) dans des sédiments intertidaux de faible salinité sont supérieurs aux taux obtenus au niveau du Canal des Retours (Tableau 27). Les rapports C_{org}/N des sédiments du canal des Rotours (supérieurs à 22,3) sont plus élevés que ceux des sédiments intertidaux ($12,7 < C_{org}/N < 18,5$), cependant ces derniers sont soumis de par la colonne d'eau à des concentrations en nitrate comprises entre 30 et 400 μM . Par conséquent, les effets de la salinité et des apports en nitrate peuvent en partie expliquer les différences de R_{max} entre ces deux études.

Les différences de conditions environnementales peuvent affecter la qualité de la matière organique, la nature du donneur potentiel d'électron ainsi que les caractéristiques de la communauté microbienne qui s'y développe et par conséquent influencer les paramètres cinétiques associés aux sédiments. L'étude des paramètres cinétiques obtenus au niveau du Canal des Rotours indiquent que les sédiments des stations 1 et 3 sont susceptibles de traiter de plus grandes quantités de nitrate que les stations 2 et 4.

5.3.3 Effet de l'influence du débit sur les taux potentiels de réduction de nitrate

Afin d'évaluer l'influence du temps de contact eau/sédiment sur la réduction du nitrate, les sédiments de la station 3 ont été incubés et soumis à une solution nourrice de 6mM de nitrate à 5 débits différents (Figure 60). Dans cette figure, les boîtes englobent les quartiles supérieur et inférieur, les points indiquent les valeurs extrêmes tandis que les lignes horizontales correspondent aux valeurs médianes des taux de réduction. Pour tous les débits étudiés, une diminution systématique des concentrations en nitrate a été observée. Le taux de réduction de nitrate augmente avec le débit jusqu'au débit de 2,7 $ml.h^{-1}$ où il atteint la valeur moyenne de $287,5 \pm 72,4$ $nmol.cm^{-3}.h^{-1}$, puis il y a une diminution des taux. Cette augmentation des taux de réduction par unité de temps et dans un premier temps due à l'augmentation de l'apport de nitrate. Aux forts débits, la réduction du nitrate peut être limitée par la vitesse de diffusion du nitrate (Willems *et al.* 1997) ce qui pourrait expliquer la chute des taux de production dans le second temps.

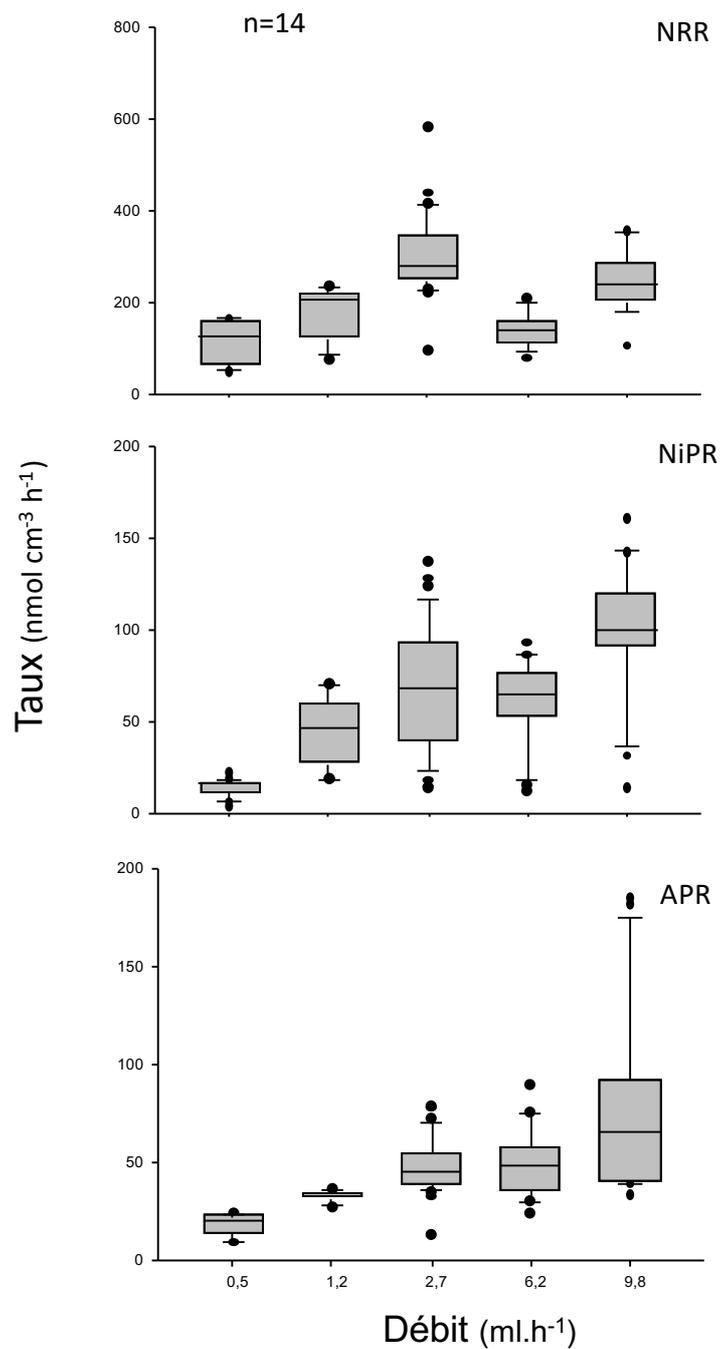


Figure 60 : Box-plot de l'effet de la variation du débit sur les taux de réduction de nitrate (NRR) et les taux de production de nitrite (NiPR) et d'ammonium (APR) déterminés par la méthode des réacteurs à flux continu après l'incubation des sédiments de la station 3.

Comme dans l'expérience précédente, en plus de la diminution des concentrations de nitrate, il y a une production de nitrite et d'ammonium en sortie de tous les réacteurs (Figure 60). En augmentant le débit, les taux de production moyens d'ammonium et de nitrite augmentent ; pour le débit le plus faible, ils sont respectivement de 18,2 et 13,8 nmol.cm⁻³.h⁻¹ et atteignent 73,1 et 111,3 nmol.cm⁻³.h⁻¹ au débit de 9,8 ml.h⁻¹ (Tableau 28).

Tableau 28 : Moyenne des taux de réduction et de production d'ammonium et de nitrite observés dans les réacteurs contenant les sédiments de la station 3. Dans l'expérience les sédiments ont été soumis à une solution nourrice de concentrations en nitrate de 6 mM. `

Débit	Taux de réduction du nitrate		Taux de production d'ammonium		Taux de production du nitrite	
	ml.h ⁻¹	nmol.cm ⁻³ .h ⁻¹ Ecart-type				
0,5	113,0	44,5	18,2	5,3	13,8	5,0
1,2	176,6	54,7	32,2	3,0	47,5	17,4
2,7	287,5	72,4	46,8	13,5	73,1	33,0
6,2	139,7	38,3	47,7	17,9	68,5	14,4
9,8	241,2	67,9	73,1	47,7	111,3	22,9

Même si les taux de réduction augmentent avec le débit le pourcentage d'élimination du nitrate est plus élevé aux faibles débits (Figure 61). Au débit le plus faible le pourcentage d'élimination du nitrate est de 52,7 alors qu'il est-il est 10 fois inférieur au débit le plus rapide, soit un pourcentage d'élimination de 5,6%. La diminution du débit entraîne une augmentation du temps de séjour de la solution nourrice dans le réacteur entraînant ainsi une plus grande consommation des nitrates.

L'augmentation de la consommation du nitrate par les populations microbiennes présentes dans les sédiments de zone humide associée à une augmentation du temps de contact entre ces deux éléments a déjà été observée dans plusieurs études. En effet, dans les zones humides naturelles d'eau douce (Jansson *et al.* 1994; Willems *et al.* 1997; Chen *et al.* 2017) aussi bien que dans les zones humides restaurées (Woltemade et Woodward 2008) ou encore dans les zones humides artificielles d'eau douce et de mangrove (Toet *et al.* 2005; Wu *et al.* 2008). Plus le temps de séjour est grand plus les concentrations en nitrate diminuent.

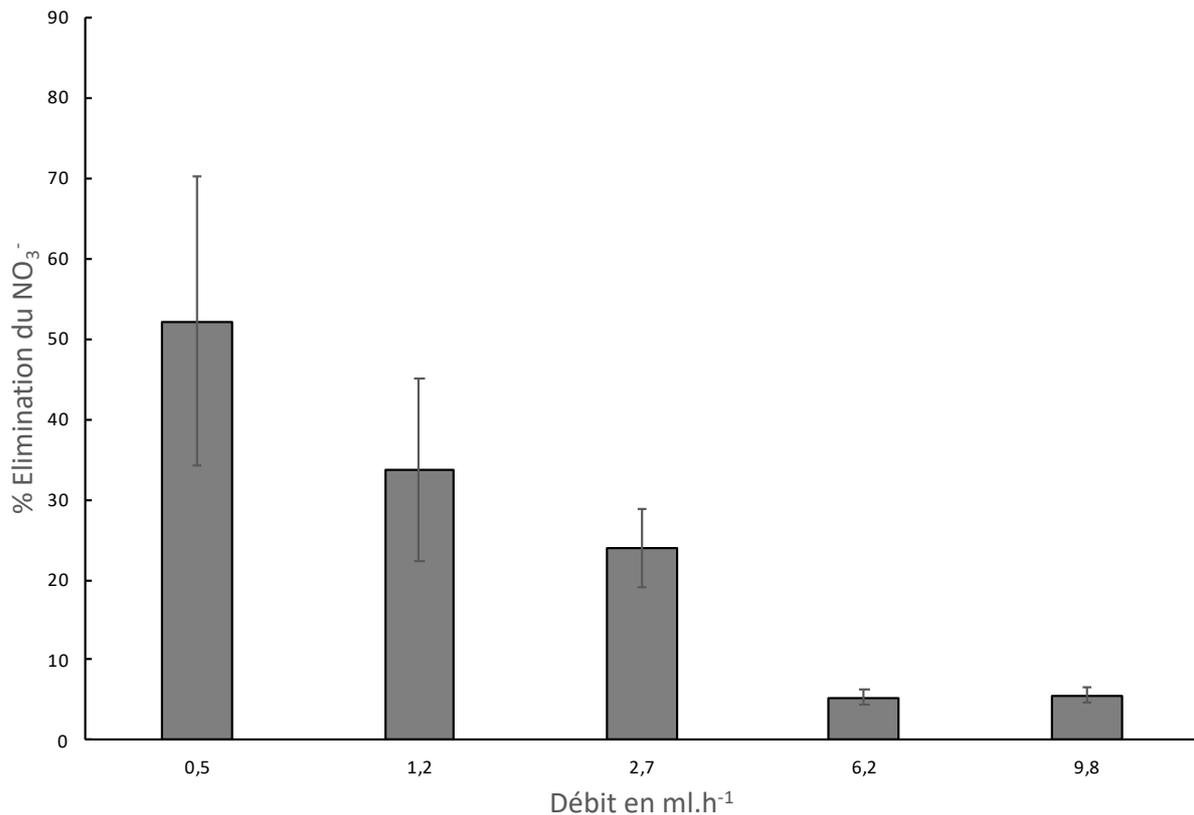


Figure 61 : Pourcentage d'élimination du nitrate en fonction des différents débits. Les barres d'erreur représentent les écart-type sur les moyennes calculées à partir des mesures obtenues pour chaque réplique au niveau de la station 3.

Les conditions hydrodynamiques, en modifiant les caractéristiques sédimentaires vont affecter spatialement et temporellement les flux de nutriments (Lin *et al.* 2016b). En effet, l'hydraulique du système (la marée, l'apport d'eau douce des rivières, la pluviométrie, l'influence de la nappe souterraine) influence le fonctionnement des zones humides en affectant entre autres la durée de contact entre les micro-organismes et le substrat ainsi que la salinité. L'augmentation du temps de contact entre les micro-organismes présents dans les sédiments de mangrove et le substrat permet l'augmentation de l'efficacité de la réduction du nitrate.

5.3.4 Effet de différentes sources de carbone sur les taux potentiels de réduction de nitrate

Les processus d'élimination du nitrate en anaérobie nécessitent une source de carbone organique comme source d'énergie. L'efficacité de cette élimination dépend de la disponibilité du carbone et de sa qualité [composition chimique] (Hume *et al.* 2002; Pulou *et al.* 2012; Shiau *et al.* 2016; Chen *et al.* 2017). Afin d'évaluer l'influence de la nature et de la disponibilité du carbone sur les taux de réduction potentiels du nitrate, 3 différentes sources de carbone ont été fournies au sédiment. Les ajouts se sont faits soit par mélange avec les sédiments incubés

(feuilles de palétuviers) soit au travers de la solution nourrice (acétate 2mM) et l'ensemble des réacteurs ont été alimentés par une solution nourrice à 6mM en nitrate à un débit de 3 ml.h⁻¹.

5.3.4.1 Caractéristiques des sédiments et des feuilles de palétuvier incubés

Les caractéristiques des matrices incubées dans les réacteurs et celles des feuilles utilisées comme source de carbone additionnelle sont présentées dans le Tableau 29.

Les feuilles de palétuviers vertes ont un contenu en carbone de 47,9 % alors que pour les feuilles jaunes le pourcentage de carbone 46,6 %. Le contenu en azote est deux fois plus faible dans les feuilles de palétuviers jaunes que dans les feuilles vertes soit un contenu de 0,6 % dans les feuilles jaunes contre 1,2 % dans les feuilles vertes (Tableau 29). Les feuilles matures vertes et photosynthétiquement actives ont des concentrations en azote beaucoup plus élevées que les feuilles sénescentes (Kathiresan 2004). Les résultats obtenus sur le contenu en azote des feuilles sont en accord avec l'étude menée par Benner *et al* (1990) où le contenu azoté des feuilles de *Rhizophora mangle* varie de 1,27 % dans les feuilles vertes à 0,65 % dans les feuilles jaunes.

L'addition des feuilles broyées au sédiment augmente le contenu en carbone des réacteurs. A la vue des contenus en azote et en carbone, l'addition de ces feuilles au sédiment va augmenter le ratio C/N.

Tableau 29 : Caractéristiques des matrices introduites dans les réacteurs pour l'étude de l'effet de l'ajout du carbone sur les taux de réduction de nitrate et caractéristiques des feuilles utilisées pour la réalisation des mélanges feuilles/sédiments (*)

	%N	%C	$\delta^{15}\text{N}$ ‰	$\delta^{13}\text{C}$ ‰	C/N atome/atome
Sédiment	1,6	37,2	3,6	-28,0	26,5
Sédiment + feuilles vertes	1,4	43,8	3,5	-28,1	35,5
Sédiment + feuilles jaunes	1,1	39,9	4,3	-28,8	42,7
Feuilles jaunes	0,6	46,6	6,5	-28,7	90,6
Feuilles vertes	1,2	47,9	2,6	-28,7	48,1

5.3.4.2 Effet de l'ajout des feuilles de palétuvier et du carbone organique dissout sur l'élimination du nitrate

La Figure 62 présente les taux de réduction de nitrate ainsi que les taux de production de nitrite et d'ammonium en fonction des ajouts de carbone réalisés. Dans cette expérience les sédiments ont été soumis à une solution nourrice de concentrations en nitrate de 6 mM. Dans cette figure, les boîtes englobent les quartiles supérieur et inférieur, les points indiquent les valeurs extrêmes tandis que les lignes horizontales correspondent aux valeurs médianes des taux de réduction. Les lettres permettent d'identifier les groupes statistiques, chaque lettre étant représentative d'un groupe dont les différences ne sont pas significatives pour le paramètre étudié. Les taux de réduction de nitrate (NRR) obtenus pour les sédiments seuls et ceux ayant fait l'objet de l'ajout de feuilles de palétuvier forment un groupe (lettre « a ») significativement opposé ($p > 0,05$) aux taux obtenus à la suite de l'ajout d'acétate (lettre « b »).

Les taux moyens de réduction du nitrate varient entre 159,7 et 725,1 $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$. Les sédiments avec les feuilles jaunes réduisent moins les nitrates que ceux mélangés aux feuilles vertes soit 259,9 contre 338,3 $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$. Cependant, les différences entre les deux traitements ne sont pas significatives ($p < 0,05$). L'addition d'acétate dans la solution nourrice fait passer le taux de réduction du nitrate des sédiments de 159,7 à 725,1 $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$. Les réacteurs qui ont fait l'objet d'un ajout de carbone montrent des taux de réduction de nitrate plus élevés que ceux n'en n'ayant pas fait l'objet. Bien que les taux de réduction de nitrate augmentent avec l'ajout des feuilles de palétuviers comparativement aux taux obtenus pour le sédiment seul, cette augmentation n'est pas significative. L'analyse statistique a ainsi permis d'identifier deux groupes en fonction des taux de réduction du nitrate (Figure 62). Même si les différences de taux entre les deux traitements ne sont pas statistiquement significatives, ces résultats suggèrent que le degré de dégradation des feuilles de palétuviers (feuilles vertes et feuilles sénescents jaunes) a une influence sur l'activité réductrice de nitrate par des micro-organismes.

Pour les feuilles servant de source de carbone, les différences dans le potentiel de dénitrification dépendent plus des teneurs en sucres, des quantités de lignine et des rapports C/N (Guiral 1999; Hume *et al.* 2002). L'étude réalisée par Benner *et al.* en 1990 apporte des informations sur la composition des feuilles de *Rhizophora mangle*. Une feuille sénescence est composée à 50% de sucres, 20% de tanins, de composés lipidiques et d'autres polymères qui représentent 15% du poids des tissus foliaires. Les feuilles jaunes sont plus riches en lignine, tanin et cellulose

que les feuilles vertes et ces dernières contiennent plus de sucres et hémicellulose. Le composé carboné majoritaire des feuilles vertes est par conséquent plus facilement assimilable par les micro-organismes que celui de feuilles jaunes ce qui pourrait expliquer la légère différence dans les taux de réduction du nitrate. De plus, lorsque la matière organique fournie aux bactéries dénitrifiantes est riche en lignine et que le rapport C/N est élevé comme c'est le cas pour les feuilles jaunes de palétuvier, les quantités de biomasse nécessaires à la réduction du nitrate doivent être augmentées pour atteindre un taux similaire à celui obtenu par des feuilles pauvres en lignine (augmentation du ratio sédiment feuille) (Hume *et al.* 2002; Hang *et al.* 2016). Les feuilles jaunes ont un C/N plus élevé, dans le cadre de cette expérience elles ont été introduites au même ratio (feuilles broyées/sédiment) que celui des feuilles vertes. Peut-être aurait-il été intéressant de faire varier les quantités de feuilles introduites pour optimiser la réduction du nitrate ?

Par opposition, l'augmentation significative des taux de réduction du nitrate avec l'ajout d'acétate montre que les micro-organismes sont capables d'utiliser rapidement cette nouvelle source de carbone. Les bactéries réductrices utilisent préférentiellement comme sources de carbone externes les sucres et les acides organiques qui sont des molécules simples facilement assimilables (Lu *et al.* 2009) ce qui pourrait expliquer les forts taux observés lors de l'ajout d'acétate.

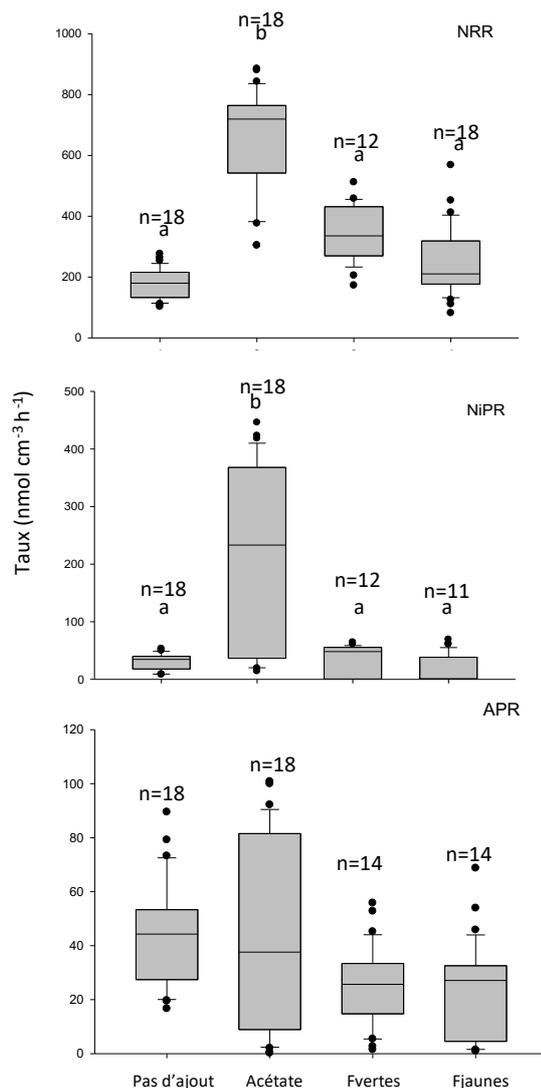


Figure 62 : Box-plot de l'effet des différentes sources de carbone sur les taux de réduction de nitrate (NRR) et les taux de production de nitrite (NiPR) et d'ammonium (APR) déterminés par la méthode des réacteurs à flux continu après l'incubation des sédiments de la station 3.

Même si les différences entre traitement ne sont pas significatives, l'ajout de carbone a amélioré l'élimination du nitrate ce qui sous-entend que la réduction du nitrate est limitée par les quantités de carbone dans les sédiments de mangrove étudiés. De plus, alors que la présence d'acétate multiplie par plus de 4,5 le taux de réduction moyen du nitrate au niveau des sédiments du Canal des Rotours, l'activité dénitrifiante est à peine multipliée par deux pour cette même source de carbone dans les sédiments de mangrove de Taiwan étudiés par Shiau *et al.* en 2016. Les bactéries réductrices de nitrate sont donc sélectives dans l'usage des sources de carbone. Quelle que soit la source de carbone fournie au sédiment, l'ensemble des sorties de réacteurs présentent une production de nitrite et d'ammonium en quantités variables.

La production moyenne d'ammonium varie entre 21,5 et 25,3 $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$ en fonction des sources de carbone fournies au sédiment et le taux maximal de production est atteint dans les réacteurs qui n'ont pas fait l'objet d'ajout de carbone (33,6 $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$). Les médianes des taux de production d'ammonium (Figure 62) sont peu dispersées en fonction des traitements.

Par opposition, l'ajout de carbone provoque une augmentation de la production de nitrite. Les taux de production de nitrite ont été soumis au même test statistique que les taux de réduction de nitrate. Les taux de productions se répartissent selon deux groupes statistiques identiques à ceux identifiés pour les taux de réduction de nitrate. Les taux de production de nitrite après l'ajout d'acétate sont significativement différents des taux de production des sédiments seuls et de ceux qui ont fait l'objet d'un ajout de feuilles de palétuviers.

En effet, le taux de production moyen de nitrite obtenu dans les sédiments ayant fait l'objet d'un ajout d'acétate est 7 fois supérieur aux taux des sédiments qui n'ont pas fait l'objet d'ajout. Parallèlement, le taux de réduction de nitrate associé à cette production de nitrite est 4,5 fois supérieur en présence d'acétate au taux obtenu dans les sédiments qui n'ont pas subis d'ajout de carbone. L'acétate améliore donc la réduction de nitrate mais entraîne une accumulation de nitrite.

L'accumulation de nitrite avec l'apport d'une source additionnelle de carbone a déjà été observée dans des études antérieures au niveau de zones humides (Lu *et al.* 2009; Chen *et al.* 2017). De plus dans les conditions expérimentales, le nitrite dosé est la résultante de la production de nitrite due à la réduction du nitrate ou de l'oxydation de l'ammonium. Ainsi le changement de source de carbone peut modifier les quantités de nitrites dans le milieu en influençant les processus en jeu. Les quantités de nitrate et l'accumulation de nitrite à l'interface eau sédiment sont affectées par les proportions de carbone et d'azote fournies aux micro-organismes. L'accumulation de nitrite pour le traitement avec l'acétate peut être expliquée par un mauvais ajustement entre les quantités de nitrate et de carbone introduites. La dénitrification est accomplie par deux types d'enzymes : les nitrates réductases (Nar et Nap) et la nitrite réductase (Nir) qui nécessitent une source d'électrons provenant de l'oxydation du carbone (cf. partie 1.1.2.2). Selon Chen *et al.* (2017), la compétition entre les réductases se produit lorsque l'apport en carbone est insuffisant et que le nitrate inhibe la réduction des nitrites. L'enzyme nitrate réductase ayant une meilleure affinité avec les électrons provenant du carbone va permettre la réduction du nitrate en nitrite mais ce dernier va par la suite

s'accumuler dans le milieu. Il est donc nécessaire de bien contrôler ces paramètres pour qu'une espèce polluante ne soit pas remplacée par une autre.

5.3.5 Effet de la saison sur les taux de réduction de nitrate

Les taux de production de nitrite et d'ammonium et de réduction du nitrate obtenus à la station 3 à différentes dates sont présentés dans la Figure 63. A ces trois dates, les sédiments ont été soumis à une solution nourrice de concentrations en nitrate de 6 mM et à un débit de 3 ml.h⁻¹. Dans cette figure les box plots englobent les quartiles supérieur et inférieur, les points indiquent les valeurs extrêmes tandis que les lignes horizontales correspondent aux valeurs médianes des taux. Les lettres permettent d'identifier les groupes statistiques, chaque lettre étant représentative d'un groupe dont les différences ne sont pas significatives pour le paramètre étudié.

Entre 2016 et 2017, une diminution des taux de réduction du nitrate a été observée d'une année à l'autre au cours de la saison des pluies (Figure 63).

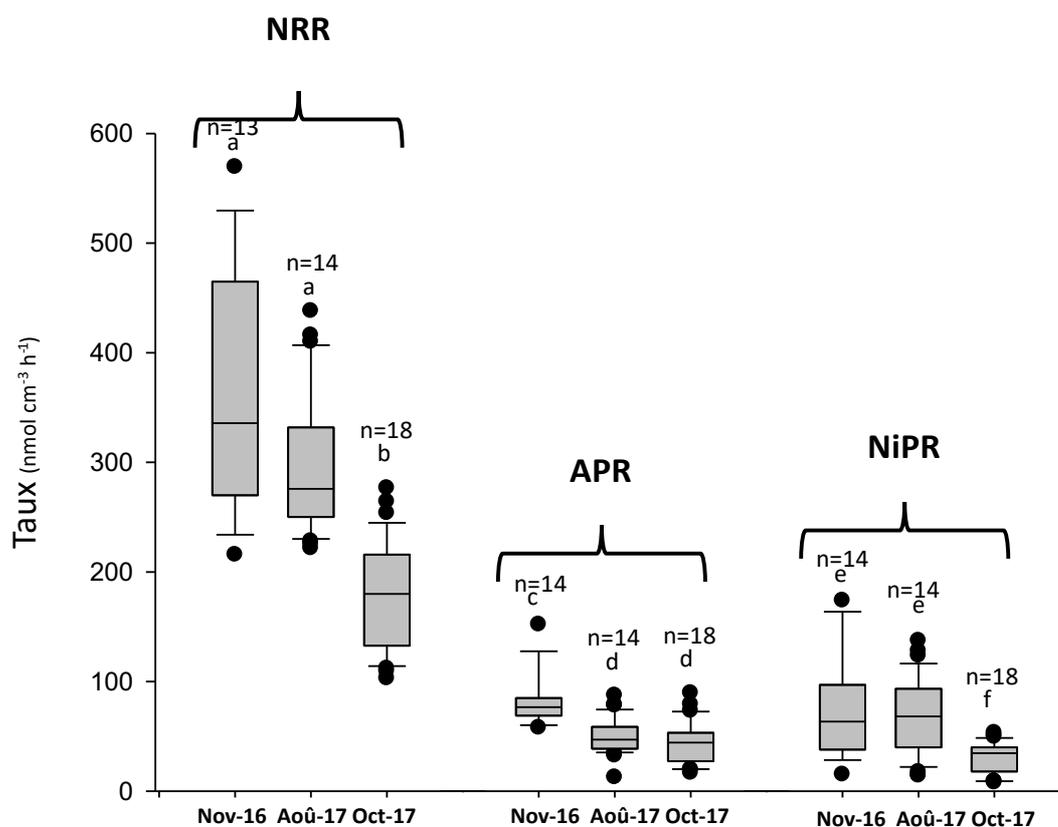


Figure 63 : Évolution des taux de réduction de nitrate (NRR) et les taux de production de nitrite (NiPR) et d'ammonium (APR) déterminés par la méthode des réacteurs à flux continu après l'incubation des sédiments de la station 3 en novembre 2016, août et octobre 2017.

Pour la production d'ammonium, les taux se répartissent selon deux groupes (c et d). Il n'y a pas de différence significative entre les taux de production d'août et d'octobre 2017, et ces taux sont significativement différents de la moyenne des taux de production obtenu en novembre 2016.

Les taux de production de nitrite diminuent d'une année à l'autre. Pour ces deux paramètres, deux groupes statistiques sont identifiables (e et f). Les mois de novembre 2016 et août 2017 ne présentent pas de différences significatives l'un avec l'autre. Le mois d'octobre 2017 est significativement différent des deux autres mois et c'est à ce mois que l'on atteint les taux de réduction moyen en nitrate et les taux de production en nitrite les plus faibles (respectivement 159,7 et 39,5 nmol.cm⁻³.h⁻¹).

Pour une même zone géographique, les taux sont donc variables au cours du temps. Les contenus en carbone et en azote varient très peu d'une période à l'autre et ne permettent pas à eux seuls d'expliquer les différences de taux sur les périodes étudiées (Tableau 30).

Tableau 30 : Caractéristiques des sédiments incubés. L'ensemble des sédiments a été prélevé au niveau de la station 3 mais à des dates différentes

Date	%C	$\delta^{13}\text{C}$ ‰	%N	$\delta^{15}\text{N}$ ‰	C/N Atome/atome
Nov 2016	30,2	-28,5	1,3	2,5	26,6
Août 2017	33,9	-27,6	1,2	3,7	32,1
Oct 2017	37,2	-28,0	1,6	3,6	26,5

Les taux de réduction du nitrate peuvent être influencés en fonction d'autres paramètres qui n'ont pas été mesurés *in situ* dans le cadre des expériences menées dans ce chapitre comme l'influence de la salinité, du potentiel redox et du couvert végétal (Willems *et al.* 1997; Ye *et al.* 2001; Laverman *et al.* 2006; Woltemade et Woodward 2008; Fernandes *et al.* 2010; Gu *et al.* 2012; Shiau *et al.* 2016; Fernandes *et al.* 2016; Shiau *et al.* 2017). L'étude de ces paramètres dans le détail permettrait peut-être d'expliquer les différences de taux potentiels de réduction du nitrate au cours des différentes périodes de prélèvement.

5.3.6 Optimisation des taux de réduction du nitrate par les sédiments de mangrove

Afin d'appréhender l'effet des concentrations en nitrate, de l'apport de carbone et du temps de contact eau/sédiment sur la l'élimination du nitrate, les pourcentages d'élimination du nitrate ont été présentés en fonctions des différents traitements appliqués aux sédiments de la station 3 (Figure 64). Pour des questions de temps et de logistique, la station 3 a été privilégiée car

c'est la station qui est située en cœur de mangrove. A noter que les boîtes grises/bleues ont été soumises au même traitement sédiment seul, solution nourrice à 6 mM et débit de 3 ml.h⁻¹ mais à des périodes différentes (cf. partie 5.3.5).

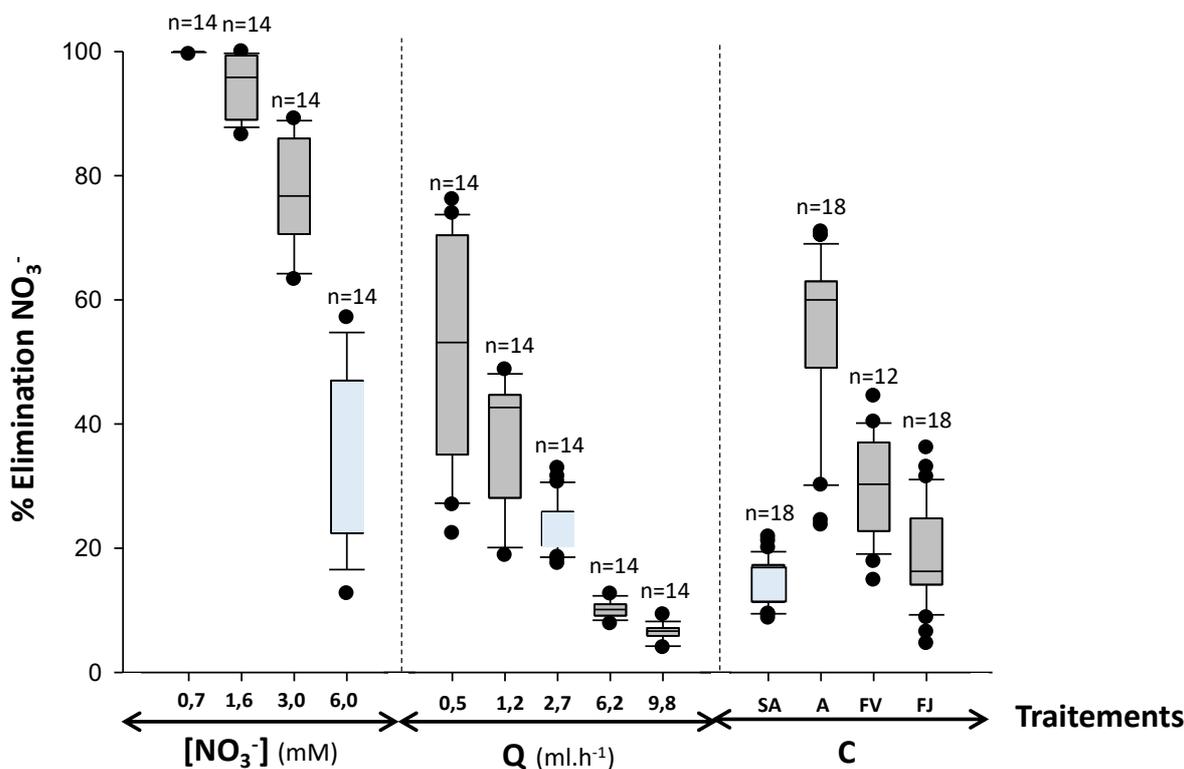


Figure 64 : Pourcentage d'élimination du nitrate en fonction des concentrations en nitrate (de 0,7 à 6 mM), des débits (de 0,5 à 9,8 ml.h⁻¹) et les ajouts de carbone (SA sans ajout- A acétate- FV feuilles vertes- FJ feuilles jaunes). Les boîtes grises/bleues ont subi les mêmes traitements (sédiment seul, solution nourrice à 6 mM et débit de 3 ml.h⁻¹).

L'efficacité de l'élimination du nitrate diminue avec l'augmentation des quantités de nitrate fournies par la solution nourrice. Ainsi, pour un même débit et donc pour un même temps de contact entre les micro-organismes présents dans les sédiments et le nitrate, la totalité du nitrate est réduit à la plus faible concentration, alors que la réduction du nitrate varie entre 13 à 56 % pour la solution nourrice à 6mM. Les taux de réduction maximum obtenus dans cette étude correspondent aux quantités maximales de nitrate qui peuvent être éliminées par l'activité microbienne. Ces taux sont donc à considérer dans le cadre où le nitrate est le seul accepteur d'électron disponible pour les micro-organismes et que cette élimination est propre aux zones échantillonnées. Les pourcentages d'élimination étant dépendant des quantités de nitrate, avant

tout rejet dans le milieu naturel il sera nécessaire d'identifier les gammes de rejet qui sont susceptibles d'être traitées par le milieu receveur.

Le temps de rétention est un facteur critique car l'optimisation des capacités épuratoires (Fisher et Acreman 2004) car il doit être suffisant long pour permettre la mise en place des processus biologiques qui permettent l'élimination de l'azote. Au niveau de la station 3, la diminution des temps de rétention induit s'accompagne d'une diminution de l'efficacité potentielle de la réduction qui passe alors de 52,2 % à 5,6 % soit une perte d'efficacité de l'ordre d'un facteur 10. En influant sur les débits et par conséquent sur les temps de rétention hydraulique, il est possible d'optimiser l'élimination du nitrate. L'étude de l'influence du temps de rétention sur l'efficacité de l'élimination du nitrate par une zone humide aux Pays-Bas a démontré qu'en faisant passer le temps de rétention de 0,3 à 9,3 jours, le pourcentage d'élimination du nitrate est passé de 21,2 à 85,6 % (Toet *et al.* 2005). Dans la mesure où une mangrove serait utilisée comme zone de traitement secondaire d'eaux usées, il sera entre autres nécessaire d'évaluer les débits de rejet en fonction des charges cumulatives d'azote pour garantir l'efficacité de l'élimination et permettre au nitrate de diffuser vers le sédiment afin d'y être réduit (Craig *et al.* 2008). Le contexte climatique de la Guadeloupe (forte pluviométrie, phénomènes climatiques majeurs récurrents) ainsi que l'accessibilité des zones de mangrove sur le territoire, impliqueront la mise en place de systèmes relevant de l'ingénierie écologique comme par exemple la mise en place des bâches de rétention et un drainage sur noue à travers la mangrove ou la mise en place de réseaux de pipelines dans la mangrove (Wong *et al.* 1997; Herteman 2010; Lambs *et al.* 2011). Ces installations lourdes risquent de porter atteinte au milieu naturel, il n'est donc pas recommandé de mettre en place ce type d'infrastructures.

Pour l'expérience concernant l'ajout de carbone, après le passage dans les réacteurs contenant les sédiments seul 13,2 % du nitrate introduit a été réduit. Pour l'acétate, l'élimination du nitrate atteint 62,8 % alors que pour les ajouts de feuilles jaunes et vertes l'élimination est respectivement de 20,7 et 29,73 %. L'efficacité de la réduction est dépendante de la nature de la source de carbone fournie à la communauté bactérienne présente dans les sédiments. Les bactéries dénitrifiantes présentent se sont rapidement adaptées aux sources de carbone fournies. Une telle réactivité peut être intéressante dans le cadre d'utilisation de ces zones en ingénierie écologique (Chen *et al.* 2017). De plus, la source et la quantité de carbone organique ajoutée peut avoir une influence sur la voie métabolique préférentielle d'élimination du nitrate. L'utilisation de différentes sources de carbone pour la réduction du nitrate contenu dans des boues de digesteur par Akunna *et al.* (1993) a montré que 100 % du nitrate introduit dans les

batches a été réduit par dénitrification en présence d'acide lactique et d'acide acétique alors qu'en présence de glucose et de glycérol seul 50 % du nitrate réduit a été transformé en ammonium via la DNRA. Les sous-produits de la réduction dépendent donc de la nature du substrat carboné présent dans le milieu. Dans le contexte du Canal des Rotours, les voies métaboliques d'élimination n'ont pas été identifiées, mais les différences dans les pourcentages d'élimination et dans les taux de production de nitrite et d'ammonium en fonction des différentes sources de carbone sont potentiellement dues à des processus d'élimination du nitrate différents.

Les pourcentages d'élimination obtenus pour les sédiments soumis à la même concentration nourrice de nitrate (6 mM) et au même débit (3 ml.h⁻¹) sont représentés en bleu sur la Figure 64. En plus de varier en fonction des concentrations de nitrate fournies, de la qualité et de la quantité de carbone disponible et des temps de contact entre le sédiment et le nitrate, ces résultats confirment que l'efficacité de l'élimination pour un site donné varie au cours du temps.

Pour un système donné, l'estimation des taux de réduction du nitrate et la compréhension des facteurs qui influencent les processus d'élimination présentent plusieurs avantages telle que l'optimisation des capacités d'élimination du nitrate. Les résultats obtenus suggèrent que l'ajout d'une source de carbone externe combinée à un temps de rétention hydraulique long serait une approche efficace pour obtenir une amélioration de l'élimination des nitrates avec une faible accumulation de nitrite.

L'élimination du nitrate varie spatialement, l'identification des spécificités régionales, l'étude d'un maximum de paramètres et l'élaboration de modèles d'impact seront des outils indispensables pour la prise de décisions concernant le cadre de l'utilisation des mangroves (Kelleway *et al.* 2017). Il serait ainsi possible d'estimer les changements d'efficacité du système en fonction de la variation des différents paramètres étudiés, d'identifier les zones de mangroves plus aptes à recevoir des rejets ou encore d'optimiser l'élimination.

Une utilisation judicieuse de ces milieux pour le traitement des effluents secondaires d'eaux usées (effluents après traitement biologique) ou en relais des stations d'épuration en cas de surcharge de ces dernières pourraient être envisagée dans le respect de la réglementation en vigueur. De nombreux pays utilisent déjà les mangroves comme alternative «verte» et peu coûteuse pour le traitement des eaux usées et des eaux pluviales provenant des zones côtières (Corredor et Morell 1994; Wong *et al.* 1997; Ye *et al.* 2001; Yang *et al.* 2008; Herteman 2010;

Lambs *et al.* 2011; Chen *et al.* 2011). Cependant tout rejet doit se faire de façon contrôlée avec un suivi à long terme des effets de ces rejets sur l'écosystème dans son ensemble.

Même si les processus qui régissent l'élimination du nitrate sont connus, l'ingénierie écologique n'en est qu'à ses débuts et la réponse à long terme des mangroves face aux divers polluants contenus dans les eaux usées (matière organique-pesticides-métaux...) n'est pas connue. Jusqu'à ce que l'on soit capable de déterminer les capacités réelles de l'élimination du nitrate par les sédiments de mangrove, ce type d'utilisation devrait être mis en place en tant qu'expérience de gestion adaptative du milieu plutôt qu'en tant que solution aux problèmes de pollution au nitrate. L'objectif étant de fournir au milieu les éléments nécessaires pour améliorer le potentiel de réduction ou de régulation de l'azote par l'activité des micro-organismes tout en préservant l'intégrité écologique. En effet, le fait de fournir aux mangroves des apports azotés supérieurs aux quantités réelles qu'elles sont susceptibles d'éliminer peut engendrer des effets négatifs tels que l'eutrophisation ou l'émission de gaz à effet de serre (Chen *et al.* 2011).

La restauration des mangroves peut être un outil potentiel pour la gestion des écosystèmes côtiers et la lutte contre les pollutions azotées. En effet, parmi les écosystèmes marins les plus étudiés du point de vue de la restauration, les mangroves semblent les plus propices aux tentatives de restauration en raison de la facilité d'accès, des caractéristiques du cycle vital et de leur valeur économique (Kaly et Jones 1998). Les projets de restauration du fonctionnement biogéochimique des mangroves relèvent de nombreux processus complexes dépendant facteurs tels que l'hydrologie, l'état du sol, le mouvement de carbone, le recyclage des nutriments (McKee et Faulkner 2000). Les premières tentatives de restauration des mangroves ont été mitigées certains résultats ont été couronnés de succès, tandis que d'autres ont été condamnés dès le début (Gilman et Ellison 2007; Bosire *et al.* 2008). L'identification de l'état naturel initial, le développement de biotechnologies (ajout de carbone, modification du chemin d'écoulement, plantation de palétuviers) et l'évaluation du succès des actions mises en œuvre à long terme sont indispensables pour la mise en place de mesures de restauration visant à une réduction des quantités d'azote pérennes (Kaly et Jones 1998; Ellison 2000; Craig *et al.* 2008).

5.4 Conclusion

Milieux receveurs de nombreux effluents issus des activités anthropiques, les mangroves sont soumises à des apports azotés de sources diverses. Les résultats obtenus dans le cadre de ce

chapitre suggèrent que les sédiments marins de mangrove de la zone étudiée ont potentiellement une grande capacité à éliminer le nitrate. L'hétérogénéité dans les valeurs des taux de réduction suggère que certaines zones de mangrove, et plus généralement que certaines mangroves, seraient plus aptes que d'autres à répondre positivement à un enrichissement ponctuel de nitrate.

Les taux de réduction du nitrate sont dépendants de nombreux paramètres environnementaux et par conséquent peuvent varier spatialement et temporellement. Dans cette étude il a été démontré que la réduction potentielle du nitrate par les sédiments marins de mangrove est limitée par la disponibilité du nitrate en lui-même et par les quantités de carbone organique. L'efficacité de la réduction potentielle varie en fonction des quantités de nitrate fournies, de la nature de la source de carbone disponible pour les micro-organismes, du temps de rétention hydraulique et des périodes de prélèvement.

Quel que soit le traitement appliqué aux sédiments, les micro-organismes présents ont montré une grande adaptabilité dans leur capacité à réduire le nitrate. Néanmoins, avant de pérenniser l'exploitation de ce phénomène, il sera nécessaire de réaliser davantage d'investigations sur le fonctionnement de cet écosystème dans sa globalité (impacts sur compartiments eau, sédiment, faune et flore).

Une meilleure connaissance du milieu permettra ainsi la mise en place des pratiques de gestion adaptées telle que la restauration des écosystèmes ou l'optimisation des fonctions assurées, ce qui garantira à long terme la préservation des services écosystémiques rendus par les mangroves.

6 Conclusion et perspectives

6.1 Objectifs, synthèse de l'étude et conclusions principales

Une des principales sources de pollution touchant les mangroves concerne les rejets azotés imputables aux activités anthropiques. Malgré l'amélioration des pratiques de gestions visant à réduire les excès d'azote dans l'environnement et la mise en place de textes réglementaires de plus en plus rigoureux, ces écosystèmes restent les réceptacles finaux des rejets. Les mangroves reçoivent souvent les effluents provenant des stations d'épuration voir directement les eaux usées dans certains pays dépourvus de système d'assainissement. Cette étude est une des rares études visant à quantifier le rôle épuratoire des sédiments de mangrove vis-à-vis des nitrates dans une mangrove du bassin caribéen et la seule dans les Antilles Françaises. Alors que la plupart des travaux déjà réalisés autour de la problématique d'élimination des composés azotés par les mangroves concernent des mangroves qui sont exondées durant une période, l'originalité de ce travail de recherche réside dans le fait qu'il concerne deux mangroves en milieu marin en permanences inondées mais distinctes du point de vue de leur typologie, et de l'hydrodynamique.

L'absence de contact direct entre l'atmosphère et les sédiments limite leur oxygénation rendant ainsi le milieu très réducteur et favorisant les processus qui se déroulent en anaérobie (Alongi 1988; Tobias *et al.* 2001; Alongi 2005; Bouillon *et al.* 2008b; Cao *et al.* 2016). Cette thèse fait suite à l'identification et à la caractérisation de deux nouvelles espèces de *Beggiatoaceae* qui colonisent sous forme de tapis et de façon localisée les sédiments d'une des zones d'étude (Jean *et al.* 2015). Le sédiment est le siège des réactions biogéochimiques et les micro-organismes sont le moteur des processus qui régissent les cycles des nutriments. La présence de ce tapis microbien dont les bactéries majoritaires sont susceptibles de contribuer au couplage des cycles biogéochimiques du soufre, du carbone et de l'azote dans les sédiments de mangrove participe aussi à l'originalité de ce travail de thèse.

Cette étude avait pour objectif de répondre à plusieurs problématiques visant à appréhender la réactivité des sédiments de mangrove en milieu marin et d'identifier les différences dans les cinétiques suivies par les sédiments présentant du tapis microbien (ST) et ceux sans tapis (HT), de déterminer dans quelles mesures les sédiments de mangrove en milieu marin sont capables d'éliminer les nitrates, et d'identifier les paramètres susceptibles d'optimiser cette élimination.

Globalement les résultats ont permis de mettre en évidence les différences entre la biogéochimie des sédiments sous tapis microbien et ceux hors tapis microbien en particulier vis-à-vis de la minéralisation de l'azote et de la sulfato-réduction et d'apprécier la capacité des sédiments de mangrove à bio-remédier le nitrate.

Dans un premier temps il a été important de se focaliser sur le compartiment structurant des mangroves, le compartiment sédimentaire et de faire un état des lieux de sa composition (chapitre 3). La seconde partie du travail a consisté à faire la lumière sur l'efficacité du recyclage des éléments nutritifs via l'étude de la dégradation de la matière organique afin d'appréhender au mieux les processus de transformation, d'échange et d'assimilation qui permettent de maintenir le fonctionnement de l'écosystème (chapitre 3 et 4). La dernière partie a permis d'évaluer dans quelles mesures les sédiments de mangrove étaient capables de réduire les intrants de nitrate, la finalité étant d'identifier des zones plus ou moins propices aux rejets et d'optimiser ses capacités naturelles (chapitre 5).

6.1.1 La réactivité des sédiments (Manche à Eau)

L'étude du rapport C/N et du $\delta^{13}\text{C}$ des sédiments montrent que dans la zone d'étude, la matière organique est principalement d'origine terrestre. Cette matière organique est issue de la dégradation de la litière des palétuviers (plantes en C3 de type *Rhizophora mangles*), mais elle est aussi d'origine marine (phytoplancton, algues). Les proportions varient en fonction de l'éloignement des palétuviers. Les différences structurales entre sédiments ST riches en litière et les sédiments HT, plus sableux et riches en coquille, sont observables à l'œil nu et présagent des différences dans la réactivité et la biogéochimie de ces deux types de sédiments. L'ammonium est la source prédominante d'azote dans les eaux porales des deux types de sédiments. Avec des concentrations comprises entre 123,2 et 1127,5 μM , les sédiments ST présentent des profils d'ammonium cohérents avec la minéralisation de la matière organique alors que dans les sédiments HT la variation des teneurs est plus modérée avec la profondeur (97,8 et 163 μM). Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ces disparités : une minéralisation de l'azote plus lente dans les sédiments HT que dans ceux ST, la possible présence du processus de DNRA dans les sédiments ST ou une plus forte consommation de l'ammonium produit dans les sédiments HT. L'étude des profils de sulfate et de sulfures semblent être en faveur de l'hypothèse de différence de minéralisation de la matière organique dans les deux types de sédiments. En effet alors que la présence de sulfures n'est pas détectée dans les sédiments HT, les teneurs dans l'eau interstitielle des sédiments ST varient de 3 μM à 7,3 mM et

s'accompagnent d'une diminution des concentrations en sulfate. La sulfato-réduction joue un rôle important dans la dégradation de la matière organique des sédiments étudiés. Ce processus est plus important dans les sédiments ST que dans ceux qui ne présentent pas de tapis microbien et semble être faiblement affecté temporellement. Effectivement les taux sont de $57,3 \pm 36,1$ $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$ en 2013 et de $58,1 \pm 19,8$ $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$ en 2015 pour les sédiments HT et atteignent respectivement aux mêmes périodes $132,8 \pm 45,5$ à $86,6 \pm 44,2$ $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$ dans les sédiments ST. Les taux sont aussi supérieurs à ceux obtenus dans d'autres mangroves périodiquement exondées (Kristensen *et al.* 1991; Kristensen *et al.* 1992; Nedwell *et al.* 1994).

Avec des taux de minéralisation de l'azote maximum de 158 et de 128 $\text{nM N-NH}_4^+.\text{g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ respectivement dans les sédiments HT et ST, le processus minéralisation est une source d'azote interne notable dans les sédiments étudiés. En effet, même si la minéralisation de l'azote est potentiellement moins importante dans les sédiments de mangrove à cause des faibles concentrations de nutriments azotés présentes, ce processus reste énergétiquement plus favorable que la sulfato-réduction. Les différences de taux de minéralisation entre le sédiment HT et ST sont probablement dues à la disponibilité et la réactivité du carbone organique qui joue un rôle clé dans la régulation du processus de minéralisation en servant de source d'énergie aux micro-organismes hétérotrophes (Middelburg *et al.* 1996a).

6.1.2 Caractérisation des processus d'élimination du nitrate

Les résultats obtenus dans cette partie montrent qu'une partie du nitrate éliminé n'est pas totalement transformé en N_2 et que le processus de DNRA est susceptible d'être fortement impliqué dans l'élimination du nitrate par les sédiments de mangrove de la zone étudiée. En effet, les taux de dénitrification mesurés ne permettent pas d'expliquer à eux seuls les taux d'élimination du nitrate. De plus au vu des taux de minéralisation de l'azote, seul le processus de DNRA pourrait expliquer la forte production d'ammonium mesurée. Par ailleurs, l'étude des rapports APR/NRR a montré qu'à faible concentration l'hypothèse d'élimination du nitrate par le processus de DNRA serait dominante tandis qu'à concentration élevée la voie de la dénitrification serait préférentielle. Ces résultats sont en accord avec le fait que dans les systèmes pauvres en nutriments telles que les mangroves, la DNRA permet de conserver et de faire circuler efficacement l'azote, en minimisant ainsi la perte de nutriments qui se produirait normalement par la dénitrification (Fernandes *et al.* 2012a; Cao *et al.* 2016; Luvizotto *et al.* 2018).

Le traçage isotopique réalisé dans l'objectif de caractériser les processus en présence (chapitre 5), a permis de confirmer que l'ammonium produit par les sédiments était bien issu de la réduction du nitrate. Le facteur de fractionnement associé à la réduction du nitrate ($-31,3\% < \varepsilon < -21,1\%$) est à prendre avec des précautions à cause de la méthode de calcul employée. En l'absence de données publiées concernant le facteur de fractionnement isotopique de la DNRA (Nikolenko *et al.* 2018), ce premier travail représente une avancée en faveur de sa détermination. D'autre part la prédominance d'un processus vis-à-vis de l'autre semble être influencé par les populations microbiennes. En effet, l'activité microbienne est un des principaux facteurs qui influence les taux de transformation dans les sédiments de mangrove (Reis *et al.* 2017b). Selon Dong *et al.* (2011) et Shiao *et al.* (2016), la prédominance de la DNRA par rapport à la dénitrification dans les estuaires tropicaux serait due à la fois à un avantage énergétique des bactéries réalisant la DNRA par rapport aux bactéries dénitrifiantes dans la compétition pour le nitrate en condition limitante et à une grande affinité entre le nitrate et ces dernières. La polyvalence métabolique des bactéries impliquées est donc un facteur primordial (Enrich-Prast *et al.* 2016).

La présence de tapis microbien constitué principalement de *Beggiatoaceae* dans certaines zones semble être influencée par la chimie du sédiment. Réciproquement, les tapis microbiens semblent pouvoir influencer localement les processus biogéochimiques. Les *Beggiatoaceae* oxydent en partie l' H_2S qui diffuse du sédiment en sulfate avec le NO_3^- . L'autre partie étant stockée dans leurs cellules sous forme S^0 . Comme la DNRA fournit un donneur d'électrons, le processus pourrait être lié à la réduction des niveaux de soufre réduit dans le système aquatique (Fernandes *et al.* 2012a). Ainsi il a été suggéré par Sayama *et al.* (2015) que l'oxydation en anaérobie l' H_2S couplée à la DNRA réalisée par ces bactéries contribue à la formation d'une zone sub-oxique caractérisée par un potentiel rédox positif et des concentrations en H_2S à l'état de traces en dépit de fort taux de sulfato-réduction. Ces suggestions sont en accord avec les résultats obtenus dans le chapitre 4, à savoir un taux de sulfato-réduction plus élevé dans les sédiments ST que dans les sédiments HT et l'absence de H_2S à l'interface eau/sédiment des sédiments ST.

6.1.3 La réduction du nitrate et l'ingénierie écologique

La charge excessive en nutriments azotés contenue dans les eaux usées est une menace majeure pour la qualité de l'eau (Carey et Migliaccio 2009). Selon les chiffres clés de l'eau et de l'assainissement de l'Office de l'eau de Guadeloupe (2019), 56% des foyers guadeloupéens ne

sont pas raccordés à un réseau d'assainissement collectif et 77% de la pollution produite est renvoyée dans le milieu naturel après transition par les réseaux de collecte en mauvais état et des ouvrages aux performances insuffisantes. Le deversement dans le milieu naturel est un enjeu important pour notre petit territoire. L'étude de l'élimination du nitrate dans l'atténuation des apports de N au niveau du Canal des Rotours a montré des variations en fonction des quantités de nitrates introduites, de la distance de l'embouchure et que pour un même site l'efficacité de l'élimination est saisonnière. Les résultats obtenus au cours de cette étude démontrent aussi que ces taux d'élimination peuvent être optimisés en fonction du temps de rétention hydraulique et de la source de carbone disponible pour les micro-organismes. Avec des R_{\max} variant de 185,4 à 471,8 $\text{nmol.cm}^{-3}.\text{h}^{-1}$ pour des valeurs de K_m qui elles varient de 255,4 à 1722 μM , l'hétérogénéité des valeurs des taux de réduction atteintes d'un site à un autre suggère que certaines zones de mangrove sont plus aptes que d'autres à répondre à un enrichissement de nitrate et que les capacités d'élimination sont limitées par les concentrations en nitrate du milieu.

L'étude de l'influence du substrat et des caractéristiques des sédiments ne suffisent cependant pas à conclure sur l'origine exacte des variations des taux de réductions d'un site à l'autre. En effet, les caractéristiques sédimentaires tels que la taille de grain, la température, la salinité et le potentiel redox *in situ* n'ont pas été étudiés alors qu'ils sont susceptibles d'influencer la capacité des sédiments de mangrove à réduire le nitrate (Allen *et al.* 2007; Vymazal 2007; Shiau *et al.* 2016). Même si ce paramètre n'a pas été étudié, il est possible de supposer que l'efficacité de la réduction du nitrate d'un site à l'autre soit dépendante de la distribution, de la diversité et de l'importance de l'activité des communautés bactériennes présentes dans les sédiments (Jacinthe et Groffman 2006; Gardner et White 2010; Yang *et al.* 2012). L'hydraulique du système (marée, apport rivière, pluviométrie, nappe) influence le fonctionnement des zones humides en affectant entre autres la durée de contact entre les micro-organismes et le substrat ainsi que la salinité (Shiau *et al.* 2016). Dans ce travail de thèse, l'augmentation du temps de contact entre les micro-organismes présents dans les sédiments de mangrove et le substrat permet d'augmenter l'efficacité de la réduction du nitrate. Même si les différences entre traitement ne sont pas significatives, l'ajout de carbone a amélioré l'élimination du nitrate. Cette élimination laisse supposer que la réduction du nitrate est limitée par les quantités de carbone dans les sédiments de mangrove étudiés. En effet, les taux de réduction de nitrate sont plus élevés dans les sédiments qui ont fait l'objet d'un ajout d'une source carbonée. De plus, les micro-organismes présents dans les sédiments étudiés ont

sélectifs vis-à-vis des sources de carbone fournies et ils semblent être capables d'utiliser rapidement de nouvelles sources de carbone (Pulou *et al.* 2012). Ces techniques d'optimisation sont à envisager avec prudence car les proportions de carbone et d'azote fournies aux micro-organismes peuvent induire la production d'intermédiaires réactionnels qui peuvent s'avérer être plus dangereux pour les milieux (Gruber 2008; Fernandes *et al.* 2010; Chen *et al.* 2011; Vincent *et al.* 2017; Burgos *et al.* 2018). Il est donc nécessaire de bien contrôler ces paramètres pour qu'un composé polluant ne soit pas remplacée par un autre.

6.1.4 Réactivité des sédiments et fonctionnement de l'écosystème

Dans la zone anoxique, les sédiments agissent comme des réacteurs géochimiques éliminateurs de nitrate. La prédominance de la DNRA sur la dénitrification dans les estuaires tropicaux peut être due à la fois à un avantage énergétique dans la compétition pour les nitrates, mais aussi à une plus grande affinité des populations microbiennes pour les nitrates (Dong *et al.* 2011). L'extrême hétérogénéité des mangroves dans leur fonctionnement et leur structure rend la compréhension des dynamiques liées au recyclage des éléments nutritifs et la caractérisation individuelle des processus en présence complexe. Les interactions entre les cycles biogéochimiques, la compétitions pour les divers substrats, l'antagonisme de certains processus et le contrôle des conditions environnementales sur la prédominance de certains processus fait que chaque zone d'étude est spécifique. Cette spécificité rend difficile la mise en place d'un schéma global de fonctionnement général qui permettrait d'évaluer l'impact des services écosystémiques de régulation rendu par les mangroves à l'échelle planétaire.

Pour les écosystèmes de type mangrove, il n'existe à ce jour qu'un seul bilan complet de l'azote (Alongi 2020b; Alongi 2020a). Les résultats obtenus dans le cadre de ce travail de thèse et les processus biogéochimiques envisageables dans les sédiments étudiés sont présentés en Figure 65. Les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse confirment que les dans ces sédiments de mangrove riches en C et en S mais limités en N, les voies métaboliques des micro-organismes contribuent à surmonter la limitation des nutriments et à maintenir la productivité élevée des écosystèmes de mangrove (Lin *et al.* 2019).

Les travaux réalisés dans le cadre de cette étude ont permis d'appréhender la complexité du fonctionnement des cycles de l'azote et du soufre dans les sédiments de mangrove en milieu marin. Cependant les résultats obtenus ne permettent pas de caractériser les processus de manière séquentielle soulevant ainsi d'autres pistes de recherches à envisager afin de mieux comprendre le fonctionnement global de l'écosystème mangrove.

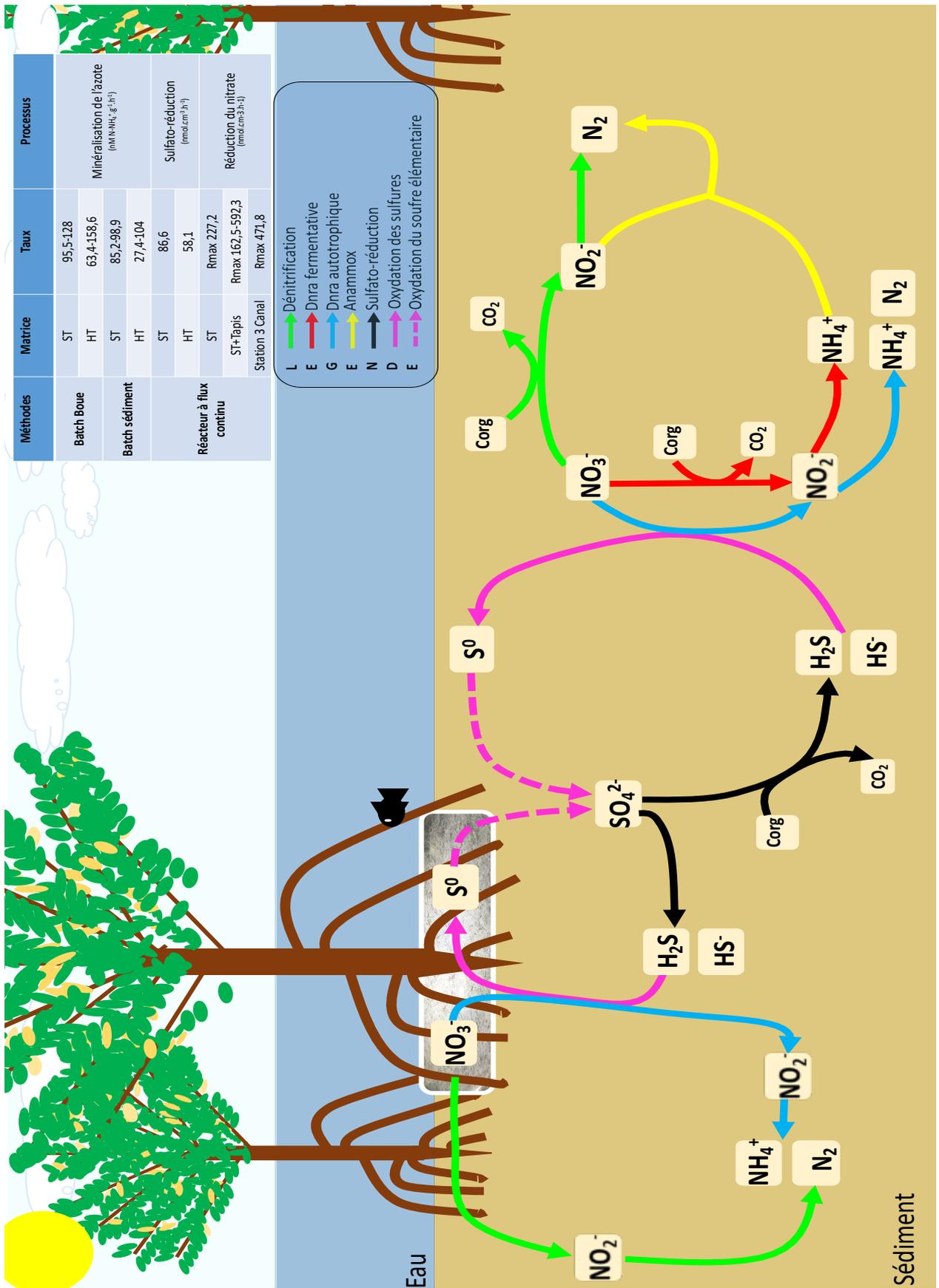


Figure 65 : Schéma de principe des réactions étudiées dans le cadre de la thèse dans les sédiments marin en anaérobie.

6.2 Perspectives et recommandation pour la recherche future

6.2.1 Les autres processus envisageables

Les écosystèmes de mangrove étudiés semblent posséder un système efficace de recyclage des éléments nutritifs basé sur les interactions entre les cycles biogéochimiques du carbone, du soufre et de l'azote. Cependant d'autres voies possibles que celles étudiées dans le cadre de cette thèse sont envisageables. Ces dernières années la recherche s'est orientée sur la compréhension des processus alternatifs d'élimination de l'azote en milieu aquatique. Plusieurs voies ont été identifiées :

- Le processus d'oxydation de l'ammonium couplée à la réduction de l'oxyde de fer en anaérobie ou Feammox qui couple ainsi le cycle de l'azote et du fer. Ce processus qui a été récemment découvert aboutit à la production de N₂ et de N₂O. En effet, il a été décrit pour la première fois en 2005 dans les sédiments de zone humide au New Jersey, USA, par (Clément *et al.* 2005). Il a été par la suite identifié dans d'autres types de sédiments tels que dans les sédiments tropicaux riches en fer et dans les sédiments marins intertidaux (Li *et al.* 2015). Ce processus a été mesuré en 2018 pour la première fois dans les sédiments de mangrove (Guan *et al.* 2018). Dans cette étude, les taux potentiels de feammox ont atteint les valeurs de $0,48 \pm 0,03 \text{ mg N kg}^{-1}\text{j}^{-1}$ soit 6.4% de la perte totale d'azote à travers la production N₂ dans les sédiments de mangrove et $0,38 \pm 0,02 \text{ mg N kg}^{-1}\text{j}^{-1}$. Ces résultats démontrent que le processus de Feammox peut agir comme un mécanisme de perte d'azote dans les mangroves. Pour tester cette hypothèse dans les sédiments étudiés, des incubations en réacteur pourraient être réalisées avec un traçage isotopique du ³⁰N₂ après que les sédiments aient été soumis à du ¹⁵NH₄⁺ avec et sans ajout de Fe(III.)
- La réalisation de batch contenant des boues d'épuration et du méthane comme seul donneur d'électrons dans des conditions de dénitrification anoxique a permis d'identifier un processus couplant la réduction du nitrate à l'oxydation du méthane (Islas-Lima *et al.* 2004). Ce processus a aussi été observé dans des consortiums bactériens constituées d'archées méthano-oxydantes et de bactéries procaryotes sulfato-réductrices dans la mer noire (Boetius *et al.* 2000). En conditions anaérobie l'oxydation du méthane se fait via le couplage entre la sulfato-réduction liée à la dégradation de la biomasse et la réduction du nitrate (électron donneur) (Siegert *et al.* 2013)

- Une autre voie de production de N_2 impliquant l'oxydation directe du NH_4^+ par le manganèse comme défini dans l'équation a été identifiée dans les sédiments marins (Luther *et al.* 1997; Barber *et al.* 2014).

Des travaux supplémentaires seront nécessaires pour identifier les contributions relatives de chacun des processus cités dans la sous partie précédente à la consommation des espèces azotées dans les sédiments. En écologie, l'utilisation des outils isotopiques permet le traçage de la circulation des éléments (Fry 2010). La composition isotopique d'un élément présent dans l'environnement reflète les sources dont il est issu et l'ensemble des processus biogéochimiques qui ont permis d'aboutir à sa formation. Ainsi, utiliser les isotopes stables pour mieux comprendre les processus nécessite de passer par l'étude de chacune des réactions élémentaires caractérisant le processus (étape par étape) et de déterminer les coefficients de fractionnement isotopique qui leur sont associés. Ces derniers pouvant varier en fonction des conditions environnementales (disponibilité en carbone, en azote, pH, O_2). De nouvelles incubations en réacteur à flux continu avec marquage isotopique (^{15}N) du nitrate et de l'ammonium des solutions nourrices devraient fournir des informations sur le rôle des différentes voies telles que la DNRA, la dénitrification incomplète, l'anammox et l'assimilation de l'ammonium à la production. Ces nouvelles expériences permettront probablement de caractériser de façon précise le facteur d'enrichissement isotopique associé à la DNRA. La méthode « isotope pairing » pourrait être utilisée pour confirmer les taux obtenus par la méthode des réacteurs. En effet cette méthode permet de calculer les taux de réduction du nitrate en mesurant simultanément la part de la dénitrification, de la DNRA et de l'anammox (Nielsen 1992; Risgaard-petersen *et al.* 2003; Song *et al.* 2013).

6.2.2 Caractérisation fine du microbiome

Les sédiments côtiers possédant des propriétés biogéochimiques différentes abritent des communautés microbiennes distinctes avec des réponses cataboliques différentes en fonction de leur résistance à une perturbation mis en présence (Vincent *et al.* 2017). Une description détaillée de la diversité bactérienne par métabarcoding ou par métagénomique dans les sédiments de mangrove améliorerait la compréhension de l'écologie bactérienne, des interactions microbiennes qui existent dans cet écosystème et permettrait éventuellement de caractériser au mieux les processus afin de contrebalancer les effets négatifs de la pollution par l'azote (Kathiresan et Selvam 2006; Jetten 2008). Des études approfondies des communautés bactériennes au niveau de l'expression des gènes devraient être l'objectif des futures études

dans cet écosystème pour comprendre la dynamique de maintien de ces environnements (Pramanik *et al.* 2018). D'autant plus que dans le cadre de cette étude, seule l'influence des bactéries filamenteuses a été étudiée et que le tapis microbien a été considéré comme une « boîte noire ». Les progrès en biogéochimie reposent donc sur les nouvelles avancées et découvertes en microbiologie environnementale (Madsen 2011). Pour mieux comprendre les cycles nutritifs et biogéochimiques dans les mangroves, il est donc essentiel d'approfondir les connaissances sur la diversité microbienne, leur potentiel métabolique, ainsi que leur rôle dans le fonctionnement des écosystèmes de mangrove (Lin *et al.* 2019).

6.2.3 La modélisation

Les mangroves interagissent avec les écosystèmes environnants et sont des zones d'export ou de réception de matière. Les interactions entre les mangroves et les écosystèmes voisins en ce qui concerne l'échange de matière et d'énergie est un autre aspect important à prendre en compte dans les études futures (Kristensen *et al.* 2017). Les taux potentiels de réduction du nitrate élevés obtenus dans cette étude suggèrent que les sédiments de mangrove en milieu marin pourraient être efficaces pour limiter l'impact des composés azotés dans les écosystèmes voisins (herbiers à phanérogames, récifs coralliens) en éliminant les nitrates avant leur arrivée. Cependant la façon dont les voies de recyclage des éléments nutritifs et l'efficacité de la décomposition de la matière organique affectent les échanges entre les mangroves et les eaux côtières n'est pas connue (Alongi 1996).

La compréhension des paramètres qui impactent les taux d'élimination du nitrate dans les sédiments de mangrove requièrent la mise en place de modèles afin de mieux caractériser ces contrôles. Plus généralement pour anticiper l'impact des rejets dans le milieu et sur les écosystèmes interconnectés en plus d'identifier les processus qui s'y déroulent de façon isolée il est important de prendre l'écosystème dans sa globalité. La complexité du cycle de l'azote (stimulation/inhibition/compétition des processus) rend difficile la caractérisation et l'identification des processus en présence. De plus en plus de chercheurs utilisent des modèles mathématiques pour examiner les relations entre les différents processus, identifier le ou les paramètres qui exercent le meilleur contrôle sur les cycles (Herbert 1999). Identifier également les processus en présence à partir de simulations basées sur les données biogéochimiques recueillies sur site ou encore afin de vérifier que les données analytiques permettent de rendre compte du comportement de l'écosystème dans sa globalité. En fournissant des informations complémentaires qui ne peuvent pas être déduites directement des seules données, la

modélisation diagénétique peut être un outil puissant pour analyser les processus de transformations et les flux benthiques liés au cycle de l'azote dans des systèmes hautement dynamiques (Akbarzadeh *et al.* 2018).

6.2.4 Bioremédiation et applications

Les services écosystémiques rendus par les mangroves et plus particulièrement les services de régulation font de ces dernières des milieux à haute valeur écologique. La bio-remédiation est souvent moins chère à mettre en place comparée aux moyens conventionnels de gestion des rejets azotés. La communauté scientifique est de plus en plus sollicitée par les gestionnaires des ressources naturelles pour quantifier l'élimination de l'azote mais surtout pour fournir des conseils pour les réduire (Craig *et al.* 2008).

Dans certains cas, les processus à médiation microbienne peuvent être transplantés et optimisés vers des environnements conçus par l'homme pour des applications commerciales ou industrielles (Madsen 2011). Une utilisation judicieuse de ces milieux pour le traitement des effluents secondaires d'eaux usées (effluents après traitement biologique) ou en relais des stations d'épuration en cas de surcharge de ces dernières pourraient être envisagée dans le respect de la réglementation en vigueur. De nombreux pays utilisent déjà les mangroves comme alternative «verte» et peu coûteuse pour le traitement des eaux usées et des eaux pluviales provenant des zones côtières (Corredor et Morell 1994; Wong *et al.* 1997; Ye *et al.* 2001; Yang *et al.* 2008; Herteman 2010; Lambs *et al.* 2011; Chen *et al.* 2011). Cependant tout rejet doit se faire de façon contrôlée et sous réserve d'un suivi à long terme des effets de ces rejets sur l'écosystème dans son ensemble.

Même si les processus qui régissent l'élimination du nitrate sont connus, l'ingénierie écologique n'en est qu'à ses débuts et la réponse à long terme des mangroves face aux divers polluants contenus dans les eaux usées (matière organique-pesticides-métaux...) n'est pas connue. Jusqu'à ce que l'on soit capable de déterminer l'impact réel sur l'ensemble des compartiments constituant les mangroves et sur les milieux avec lesquels elles sont en interaction, des suivis réguliers seront nécessaires pour contrôler le bon état des écosystèmes en question. Il sera aussi indispensable de prendre des précautions concernant le fonctionnement global de la zone de mangrove car l'exploitation d'une mangrove pour un produit ou service peut réduire sa capacité à fournir d'autres services (Ewel *et al.* 1998). Plus généralement pour évaluer les modifications sur l'écosystème mangrove, il existe également un grand besoin de développer des programmes de recherche coordonnés dans le monde entier

afin de mener des études avec des méthodologies standardisées (outils de suivis et de classification unique des mangroves) (Reis *et al.* 2017b).

Les connaissances acquises, ou à acquérir, concernant le fonctionnement du milieu devraient avoir pour finalité de permettre aux gestionnaires de cibler les zones à fort potentiel écologique ou économique et d'y hiérarchiser les services écosystémiques afin de mettre en place des stratégies de gestion pertinentes avec l'usage de chaque espace (identification des spécificités régionales).

La sensibilisation des populations et la vulgarisation des connaissances sur les services rendus sont des priorités pour impliquer tout un chacun dans la conservation des mangroves. La communauté scientifique devrait traduire les données et informations actuellement disponibles sur la complexité de la bio-géochimie des mangroves en mesure de performance robustes et applicables au programme de gestion. Ces éléments permettront aux gestionnaires d'espaces naturels et aux décideurs d'utiliser ces zones humides en s'assurant de la mise en œuvre correcte des pratiques (aquaculture, agriculture, gestion de l'eau, loisir) et ainsi éviter les effets en cascade qui aboutiraient à une destruction du milieu (Kristensen *et al.* 2017). Une évaluation économique complète des biens et des services de régulation rendus par les mangroves permettrait d'avoir des arguments convaincants auprès des institutions et du public pour garantir une gestion durable et efficace de ces écosystèmes. Bien que des progrès significatifs aient été accomplis dans l'identification des processus et la caractérisation des facteurs qui les influencent au sein des mangroves, les connaissances pertinentes et quantitatives en matière de gestion des seuils, d'échelle spatio-temporelle et de variabilité font encore défaut (Lee *et al.* 2014).

Même si quelques opérations de réhabilitation réalisées au cours de ces deux dernières décennies montrent que les habitats recréés agissent de façon multifonctionnelle et peuvent abriter une diversité naturelle et une abondance de vie sauvage tout en atténuant la pollution (Wickramasinghe *et al.* 2009), les fonctionnalités atteintes n'atteignent pas celles d'une mangrove qui n'aurait pas subi de dégradation.

Les enrichissements anthropogéniques en affectant la balance naturelle du milieu sont susceptibles d'entraîner des changements qui pourraient avoir un effet direct sur le fonctionnement de l'écosystème mangrove mais aussi sur les milieux en interaction avec ce dernier. Avant toute pérennisation de rejet en mangrove, il sera nécessaire de réaliser

d'avantage d'investigations sur le fonctionnement de cet écosystème dans sa globalité (impacts sur compartiments eau, sédiment, faune et flore).

7 Bibliographie

- Ahad, J. M. E., Ganeshram, R. S., Spencer, R. G. M., Uher, G., Upstill-Goddard, R. C., et Cowie, G. L. (2006). Evaluating the sources and fate of anthropogenic dissolved inorganic nitrogen (DIN) in two contrasting North Sea estuaries. *Science of the Total Environment* **372**, 317-333.
- Akbarzadeh, Z., Laverman, A. M., Rezanezhad, F., Raimonet, M., Viollier, E., Shafei, B., et Van Cappellen, P. (2018). Benthic nitrite exchanges in the Seine River (France): An early diagenetic modeling analysis. *Science of the Total Environment* **628-629**, 580-593.
- Akpor, O. B. (2011). Wastewater effluent discharge effects and treatment processes. *3rd International Conference on Chemical, Biological and Environmental Engineering* **20**, 85-91.
- Akunna, J. C., Bizeau, C., et Moletta, R. (1993). Nitrate and nitrite reductions with anaerobic sludge using various carbon sources: Glucose, glycerol, acetic acid, lactic acid and methanol. *Water Research* **27**, 1303-1312.
- Allen, D. E., Dalal, R. C., Rennenberg, H., Louise, R., Reeves, S., et Schmidt, S. (2007). Spatial and temporal variation of nitrous oxide and methane flux between subtropical mangrove sediments and the atmosphere. **39**, 622-631.
- Alongi, D. M. (1988). Bacterial productivity and microbial biomass in tropical mangrove sediments. *Microbial ecology* **15**, 59-79.
- Alongi, D. M. (2014). Carbon Cycling and Storage in Mangrove Forests. *Annual Review of Marine Science* **6**, 195-219.
- Alongi, D. M. (2013). Cycling and Global Fluxes of Nitrogen in Mangroves. *Global Environmental Research* **17**, 173-182.
- Alongi, D. M. (2020a). Functional Role of Mangrove Forests Along the Subtropical and Tropical Coasts of China. *Current Chinese Science* **1**, 73-86.
- Alongi, D. M. (2005). Mangrove-Microbe-Soil Relations. In « Interactions Between Macro- and Microorganisms in Marine Sediments ». (Éd E. Kristensen, R. R. Haese, et J. E. Kostka.) p. 85-103. (Washington DC.)
- Alongi, D. M. (2020b). Nitrogen Cycling and Mass Balance in the World's Mangrove Forests.

Nitrogen **1**, 167-189.

- Alongi, D. M. (2002). Present state and future of the worlds mangrove forests. *Environmental Conservation* **29**, 331-349.
- Alongi, D. M. (1996). The dynamics of benthic nutrient pools and fluxes in tropical mangrove forests. *Journal of Marine Research* **54**, 123-148.
- Alongi, D. M. (2009). « The energetics of mangrove forests ». (Springer Netherlands: Amsterdam.)
- Alongi, D. M., et Mukhopadhyay, S. K. (2015). Contribution of mangroves to coastal carbon cycling in low latitude seas. *Agricultural and Forest Meteorology* **213**, 266-272.
- Alongi, D. M., Pfitzner, J., Trott, L. A., Tirendi, F., Dixon, P., et Klumpp, D. W. (2005). Rapid sediment accumulation and microbial mineralization in forests of the mangrove *Kandelia candel* in the Jiulongjiang Estuary, China. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **63**, 605-618.
- Alongi, D. M., Sasekumar, A., Tirendi, F., et Dixon, P. (1998). The influence of stand age on benthic decomposition and recycling of organic matter in managed mangrove forests of Malaysia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **225**, 197-218.
- Alongi, D. M., Tirendi, F., et Clough, B. F. (2000). Below-ground decomposition of organic matter in forests of the mangroves *Rhizophora stylosa* and *Avicennia marina* along the arid coast of Western Australia. *Aquatic Botany* **68**, 97-122.
- Alongi, D. M., Tirendi, F., Dixon, P., Trott, L. A., et Brunskill, G. J. (1999). Mineralization of organic matter in intertidal sediments of a tropical semi-enclosed delta. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **48**, 451-467.
- Amano, T., Yoshinaga, I., Yamagishi, T., Thuoc, C. Van, Thu, P. T., Ueda, S., Kato, K., Sako, Y., et Suwa, Y. (2011). Contribution of Anammox Bacteria to Benthic Nitrogen Cycling in a Mangrove Forest and Shrimp Ponds, Haiphong, Vietnam. *Microbes and Environments* **26**, 1-6.
- An, S., et Gardner, W. S. (2002). Dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) as a nitrogen link, versus denitrification as a sink in a shallow estuary (Laguna Madre/Baffin Bay, Texas). *Marine Ecology Progress Series* **237**, 41-50.

- Aoyagi, T., Kimura, M., Yamada, N., Navarro, R. R., Itoh, H., Ogata, A., Sakoda, A., Katayama, Y., Takasaki, M., et Hori, T. (2015). Dynamic transition of chemolithotrophic sulfur-oxidizing bacteria in response to amendment with nitrate in deposited marine sediments. *Frontiers in Microbiology* **6**, 1-12.
- Aragon, G. T., Ovalle, A. R. C., et Carmouze, J. (1999). Porewater dynamics and the formation of iron sulfides in a mangrove ecosystem, Sepetiba Bay, Brazil. *Mangroves and Salt Marshes* **3**, 85-93.
- Arvidson, R. S., Morse, J. W., et Joye, S. B. (2004). The sulfur biogeochemistry of chemosynthetic cold seep communities, gulf of Mexico, USA. *Marine Chemistry* **87**, 97-119.
- Assor R. (1987). Impacts de la marée et du vent sur la sédimentation dans la lagune de la Manche-à-Eau (Guadeloupe). *Bulletin de l'Institut Géologique du Bassin d'Aquitaine* **42**, 53-66.
- Balk, M., Laverman, A. M., Keuskamp, J. a., et Laanbroek, H. J. (2015). Nitrate ammonification in mangrove soils: a hidden source of nitrite? *Frontiers in Microbiology* **6**, 1-10.
- Barber, A., Lalonde, K., Mucci, A., et Gélinas, Y. (2014). The role of iron in the diagenesis of organic carbon and nitrogen in sediments: A long-term incubation experiment. *Marine Chemistry* **162**, 1-9.
- Barbeyron, C. (2014). Vers une meilleure connaissance du canal des Rotours : Structure de la masse d'eau et proposition d'une espèce indicatrice de la pollution organique. Rapport de Master 2 Ecotrop. Université des Antilles.
- Barbier, E. B., Hacker, S. D., Kennedy, C., Koch, E. W., Stier, A. C., et Silliman, B. R. (2011). The value of estuarine and coastal ecosystem services. *Ecological Monographs* **81**, 169-193.
- Basilico, L., Dirberg, G., et Monnie, O. (2016). Mangroves : quels indicateurs pour la directive cadre sur l'eau ? Vincennes.
- Behera, B. C., Mishra, R. R., Dutta, S. K., et Thatoi, H. N. (2014). Sulphur oxidising bacteria in mangrove ecosystem: A review. *African Journal of Biotechnology* **13**, 2897-2907.
- Behera, P., Mohapatra, M., Kim, J. Y., Adhya, T. K., Pattnaik, A. K., et Rastogi, G. (2019).

- Spatial and temporal heterogeneity in the structure and function of sediment bacterial communities of a tropical mangrove forest. *Environmental Science and Pollution Research* **26**, 3893-3908.
- Benner, R., Hatcher, P. G., et Hedges, J. I. (1990). Early diagenesis of mangrove leaves in a tropical estuary: Bulk chemical characterization using solid-state ^{13}C NMR and elemental analyses. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **54**, 2003-2013.
- Benner, R., et Hodson, R. (1985). Microbial degradation of the leachable and lignocellulosic components of leaves and wood from *Rhizophora mangle* in a tropical mangrove swamp. *Marine Ecology Progress Series* **23**, 221-230.
- Benner, R., Tremblay, L., et Benner, R. (2006). Microbial contributions to N-immobilization and organic matter preservation in decaying plant detritus Microbial detritus. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **70**, 133-146.
- Berks, B. C., Ferguson, S. J., Moir, J. W. B., et Richardson, D. J. (1995). Enzymes and associated electron transport systems that catalyse the respiratory reduction of nitrogen oxides and oxyanions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **1232**, 97-173.
- Bernard, C., et Fenchel, T. (1995). Mats of colourless sulphur bacteria. II. Structure, composition of biota and successional patterns. *Marine Ecology Progress Series* **128**, 171-179. doi:10.3354/meps128171
- Bernard, R. J., Mortazavi, B., et Kleinhuizen, A. A. (2015). Dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) seasonally dominates NO_3^- reduction pathways in an anthropogenically impacted sub-tropical coastal lagoon. *Biogeochemistry* **125**, 47-64.
- Beutler, M., Milucka, J., Hinck, S., Schreiber, F., Brock, J., Mußmann, M., Schulz-Vogt, H. N., et de Beer, D. (2012). Vacuolar respiration of nitrate coupled to energy conservation in filamentous Beggiatoaceae. *Environmental Microbiology* **14**, 2911-2919.
- Bhattacharai, S., Cassarini, C., Naangmenyele, Z., Rene, E. R., Gonzalez-Gil, G., Esposito, G., et Lens, P. N. L. (2018). Microbial sulfate-reducing activities in anoxic sediment from Marine Lake Grevelingen: screening of electron donors and acceptors. *Limnology* **19**, 31-41.
- Billy, C., Billen, G., Sebilo, M., Birgand, F., et Tournebize, J. (2010). Nitrogen isotopic

composition of leached nitrate and soil organic matter as an indicator of denitrification in a sloping drained agricultural plot and adjacent uncultivated riparian buffer strips. *Soil Biology and Biochemistry* **42**, 108-117.

Blasco, F. (1982). Ecosystemes mangroves: Fonctionnement, utilite, evolution. *Oceanologica acta* **SP**, 225-230.

Boetius, A., Ravenschlag, K., Schubert, C. J., Rickert, D., Widdel, F., Gleseke, A., Amann, R., Jørgensen, B. B., Witte, U., et Pfannkuche, O. (2000). A marine microbial consortium apparently mediating anaerobic oxidation methane. *Nature* **407**, 623-626.

Bohlen, L., Dale, A. W., Sommer, S., Mosch, T., Hensen, C., Noffke, A., Scholz, F., et Wallmann, K. (2011). Benthic nitrogen cycling traversing the Peruvian oxygen minimum zone. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **75**, 6094-6111.

Bosire, J. O., Dahdouh-guebas, F., Walton, M., Crona, B. I., Iii, R. R. L., Field, C., Kairo, J. G., et Koedam, N. (2008). Functionality of restored mangroves : A review. *Aquatic Botany* **89**, 251-259.

Boto, K., Alongi, D., et Nott, A. (1989). Dissolved organic carbon-bacteria interactions at sediment-water interface in a tropical mangrove system. *Marine Ecology Progress Series* **51**, 243-251.

Boto, K. G., Wellington, J. T., Estuaries, S., et Mar, N. (1984). Soil Characteristics and Nutrient Status in a Northern Australian Mangrove Forest. *Estuaries* **7**, 61-69.

Bouillon, S., Borges, A. V, Castañeda-Moya, E., Diele, K., Dittmar, T., Duke, N. C., Kristensen, E., Lee, S. Y., Marchand, C., Middelburg, J. J., Rivera-Monroy, V. H., Smith, T. J., et Twilley, R. R. (2008a). Mangrove production and carbon sinks: A revision of global budget estimates. *Global Biogeochemical Cycles* **22**.

Bouillon, S., Connolly, R. M., Lee, S. Y., Borges, A. V, Castañeda-Moya, E., Diele, K., Dittmar, T., Duke, N. C., Kristensen, E., Lee, S. Y., Marchand, C., Middelburg, J. J., Rivera-Monroy, V. H., Smith, T. J., et Twilley, R. R. (2008b). Organic matter exchange and cycling in mangrove ecosystems: Recent insights from stable isotope studies. *Journal of Sea Research* **59**, 44-58.

Bouillon, S., Dehairs, F., Velimirov, B., Abril, G., et Borges, A. V. (2007). Dynamics of organic and inorganic carbon across contiguous mangrove and seagrass systems (Gazi

- Bay, Kenya). *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* **112**, 1-14.
- Bowden, W. B. (1984). A nitrogen-15 isotope dilution study of ammonium production and consumption in a marsh sediment. *Limnology and Oceanography* **29**, 1004-1015.
- Brix, H. (1994). Use of constructed wetlands in water pollution control: historical development, present status, and future perspectives. *Water Science and Technology* **30**, 209-223.
- Brown, K. A. (1982). Sulphur in the environment: A review. *Environmental Pollution Series B, Chemical and Physical* **3**, 47-80.
- Brunet, R. C., et Garcia-Gil, L. J. (1996). Sulfide-induced dissimilatory nitrate reduction to ammonia in anaerobic freshwater sediments. *FEMS Microbiology Ecology* **21**, 131-138.
- Bulsecò, A. N., Giblin, A. E., Tucker, J., Murphy, A. E., Sanderman, J., Hiller-Bittrolff, K., et Bowen, J. L. (2019a). Nitrate addition stimulates microbial decomposition of organic matter in salt marsh sediments. *Global Change Biology* **25**, 3224-3241.
- Bulsecò, A. N., Vineis, J. H., Murphy, A. E., Spivak, A. C., Giblin, A. E., Tucker, J., et Bowen, J. L. (2019b). Metagenomics coupled with biogeochemical rates measurements provide evidence that nitrate addition stimulates respiration in salt marsh sediments. *Limnology and Oceanography* **65**, 321-339.
- Burdige, D. J. (2012). Estuarine and Coastal Sediments - Coupled Biogeochemical Cycling. In « Treatise on Estuarine and Coastal Science ». p. 279-316. (Elsevier Inc.)
- Burdorf, L. D. W., Hidalgo-Martinez, S., Cook, P. L. M., et Meysman, F. J. R. (2016). Long-distance electron transport by cable bacteria in mangrove sediments. *Marine Ecology Progress Series* **545**, 1-8.
- Burgin, A. J., et Hamilton, S. K. (2007). Have we overemphasized the role of denitrification in aquatic ecosystems? A review of nitrate removal pathways. *Frontiers in Ecology and the Environment* **5**, 89-96.
- Burgin, A. J., et Hamilton, S. K. (2008). NO₃⁻ driven SO₄²⁻ production in freshwater ecosystems: Implications for N and S cycling. *Ecosystems* **11**, 908-922.
- Burgin, A. J., Yang, W. H., Hamilton, S. K., et Silver, W. L. (2011). Beyond carbon and nitrogen: How the microbial energy economy couples elemental cycles in diverse ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment* **9**, 44-52.

- Burgos, M., Ortega, T., Bohórquez, J., Corzo, A., Rabouille, C., et Forja, J. M. (2018). Seasonal variation of early diagenesis and greenhouse gas production in coastal sediments of Cadiz Bay: Influence of anthropogenic activities. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **200**, 99-115.
- Byung Hong, K., et Gadd, G. M. (2008). « Bacterial physiology and metabolism » Cambridge. (Cambridge University Press: New york.)
- Canfield, D. E. (1993). Organic Matter Oxidation in Marine Sediments. In « Interactions of C, N, P and S Biogeochemical Cycles and Global Change ». p. 333-363
- Canfield, D. E., Thamdrup, B., et Hansen, J. W. (1993). The anaerobic degradation of organic matter in Danish coastal sediments: Iron reduction, manganese reduction, and sulfate reduction. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **57**, 3867-3883.
- Cao, W., Yang, J., Li, Y., Liu, B., Wang, F., et Chang, C. (2016). Dissimilatory nitrate reduction to ammonium conserves nitrogen in anthropogenically affected subtropical mangrove sediments in Southeast China. *Marine Pollution Bulletin* **110**, 155-161.
- Carey, R. O., et Migliaccio, K. W. (2009). Contribution of wastewater treatment plant effluents to nutrient dynamics in aquatic systems. *Environmental Management* **44**, 205-217.
- Castro, E., León, I., et Pinedo, J. (2018). Biogeochemistry of mangrove sediments in the Swamp of Mallorquin, Colombia. *Regional Studies in Marine Science* **17**, 38-46.
- Cermelj, B., Ogrinc, N., et Faganeli, J. (2001). Anoxic mineralization of biogenic debris in near-shore marine sediments (Gulf of Trieste , northern Adriatic). *The Science of the Total Environment* **266**, 143-152.
- Chen, D., Chen, X., Huang, X., He, S., Huang, J., et Zhou, W. (2017). Controlling denitrification accompanied with nitrite accumulation at the sediment-water interface. *Ecological Engineering* **100**, 194-198.
- Chen, G. C., Tam, N. F. Y., Wong, Y. S., et Ye, Y. (2011). Effect of wastewater discharge on greenhouse gas fluxes from mangrove soils. *Atmospheric Environment* **45**, 1110-1115.
- Chen, Q., Zhao, Q., Li, J., Jian, S., et Ren, H. (2016). Mangrove succession enriches the sediment microbial community in South China. *Scientific Reports* **6**, 1-9.
- Chen, R., et Twilley, R. R. (1999). Patterns of mangrove forest structure and soil nutrient

- dynamics along the Shark River Estuary, Florida. *Estuaries* **22**, 955-970.
- Chiu, C. Y., Lee, S. C., Chen, T. H., et Tian, G. (2004). Denitrification associated N loss in mangrove soil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* **69**, 185-189.
- Chmura, G. ., et Aharon, P. (1995). Stable Carbon Isotope Signatures of Sedimentary Carbon in Coastal Wetlands as Indicators of Salinity Regime. *Journal of Coastal Research* **11**, 124-135.
- Clark, M. W., McConchie, D., Lewis, D. W., et Saenger, P. (1998). Redox stratification and heavy metal partitioning in Avicennia-dominated mangrove sediments: a geochemical model. *Chemical Geology* **149**, 147-171.
- Clément, J. C., Shrestha, J., Ehrenfeld, J. G., et Jaffé, P. R. (2005). Ammonium oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron under anaerobic conditions in wetland soils. *Soil Biology and Biochemistry* **37**, 2323-2328.
- Cline, J. D. (1969). Spectrophotometric Determination of Hydrogen Sulfide In Natural Waters. *Limnology and Oceanography* **14**, 454-458.
- Contreras, L. M., Fierro-Cabo, A., et Cintra-Buenrostro, C. E. (2017). Early drivers of Black Mangrove (*Avicennia germinans*) leaf litter decomposition in the water column. *Hydrobiologia* **803**, 147-157.
- Corredor, J. E., et Morell, J. M. (1994). Nitrate Depuration of Secondary Sewage Effluents in Mangrove Sediments. *Estuaries* **17**, 295.
- Costanza, R., D'Arge, R., de Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R. V., Paruelo, J., Raskin, R. G., Sutton, P., et van den Belt, M. (1998). The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* **387**, 253-260.
- Costanza, R., de Groot, R., Sutton, P., van der Ploeg, S., Anderson, S. J., Kubiszewski, I., Farber, S., et Turner, R. K. (2014). Changes in the global value of ecosystem services. *Global Environmental Change* **26**, 152-158.
- Craig, H., Antwis, R. E., Cordero, I., Ashworth, D., Robinson, C. H., Osborne, T. Z., Bardgett, R. D., Rowntree, J. K., et Simpson, L. T. (2021). Nitrogen addition alters composition, diversity, and functioning of microbial communities in mangrove soils: An incubation experiment. *Soil Biology and Biochemistry* **153**, 108076.

- Craig, L. S., Palmer, M. A., Richardson, D. C., Filoso, S., Bernhardt, E. S., Bledsoe, B. P., Doyle, M. W., Groffman, P. M., Hassett, B. A., Kaushal, S. S., Mayer, P. M., Smith, S. M., et Wilcock, P. R. (2008). Stream restoration strategies for reducing river nitrogen loads. *Frontiers in Ecology and the Environment* **6**, 529-538.
- Crémière, A., Strauss, H., Sebiló, M., Hong, W.-L., Gros, O., Schmidt, S., Tocny, J., Henry, F., Gontharet, S., et Laverman, A. M. (2017). Sulfur diagenesis under rapid accumulation of organic-rich sediments in a marine mangrove from Guadeloupe (French West Indies). *Chemical Geology* **454**, 67-79.
- Dähnke, K., et Thamdrup, B. (2016). Isotope fractionation and isotope decoupling during anammox and denitrification in marine sediments. *Limnology and Oceanography* **61**, 610-624.
- Dale, A. W., Bourbonnais, A., Altabet, M., Wallmann, K., et Sommer, S. (2019). Isotopic fingerprints of benthic nitrogen cycling in the Peruvian oxygen minimum zone. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **245**, 406-425.
- Dale, P. E. R., Knight, J. M., et Dwyer, P. G. (2014). Mangrove rehabilitation: a review focusing on ecological and institutional issues. *Wetlands Ecology and Management* **22**, 587-604.
- Davidson, E. A., Chorover, J., et Dail, D. B. (2003). A mechanism of abiotic immobilization of nitrate in forest ecosystems: the ferrous wheel hypothesis. *Global Change Biology* **9**, 228-236.
- Deborde, J., Marchand, C., Molnar, N., et Patrona, L. Della (2015a). Nitrogen and Phosphorus in Mangrove Sediments Along an Intertidal Gradient (Semi-arid Caledonia, New Caledonia). *Journal of Marine Science and Engineering* **3**, 52-72.
- Deborde, J., Marchand, C., Molnar, N., Patrona, L., et Meziane, T. (2015b). Concentrations and Fractionation of Carbon, Iron, Sulfur, Nitrogen and Phosphorus in Mangrove Sediments Along an Intertidal Gradient (Semi-Arid Climate, New Caledonia). *Journal of Marine Science and Engineering* **3**, 52-72.
- Demopoulos, A. W. J., Gualtieri, D., et Kovacs, K. (2010). Food-web structure of seep sediment macrobenthos from the Gulf of Mexico. *Deep-Sea Research Part II* **57**, 1972-1981.

- Deng, F., Hou, L., Liu, M., Zheng, Y., Yin, G., Li, X., Lin, X., Chen, F., Gao, J., et Jiang, X. (2015). Dissimilatory nitrate reduction processes and associated contribution to nitrogen removal in sediments of the Yangtze Estuary. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* **120**, 1521–1531.
- Denk, T. R. A., Mohn, J., Decock, C., Lewicka-szczebak, D., Harris, E., Butterbach-bahl, K., Kiese, R., et Wolf, B. (2017). The nitrogen cycle : A review of isotope effects and isotope modeling approaches. *Soil Biology and Biochemistry* **105**, 121-137.
- Donato, D. C., Kauffman, J. B., Murdiyarso, D., Kurnianto, S., Stidham, M., et Kanninen, M. (2011). Mangroves among the most carbon-rich forests in the tropics. *Nature Geoscience* **4**, 293-297.
- Dong, L. F., Sobey, M. N., Smith, C. J., Rusmana, I., Phillips, W., Stott, A., Osborn, A. M., et Nedwell, D. B. (2011). Dissimilatory reduction of nitrate to ammonium, not denitrification or anammox, dominates benthic nitrate reduction in tropical estuaries. *Limnology and Oceanography* **56**, 279-291.
- Duke, N. C., Meynecke, J.-O., Dittmann, S., Ellison, A. M., Anger, K., Berger, U., Cannicci, S., Diele, K., Ewel, K. C., Field, C. D., Koedam, N., Lee, S. Y., Marchand, C., Nordhaus, I., et Dahdouh-Guebas, F. (2007). A World Without Mangroves ? *Science* **317**, 41-43.
- Einsle, O., Messerschmidt, A., Stach, P., Bourenkov, G. P., Bartunik, H. D., Huber, R., et Kroneck, P. M. (1999). Structure of cytochrome c nitrite reductase. *Nature* **400**, 476-80.
- Ellison, A. M. (2000). Mangrove restoration: Do we know enough? *Restoration Ecology* **8**, 219-229.
- Enrich-Prast, A., Figueiredo, V., Esteves, F. D. A., et Nielsen, L. P. (2016). Controls of Sediment Nitrogen Dynamics in Tropical Coastal Lagoons. *Plos One* **11**.
- Ewel, K. C., Twilley, R. R., et Eong Ong, J. (1998). Different Kinds of Mangrove Forests provide different goods and services. *Global Ecology and Biogeography Letters* **7**, 83-94.
- FAO (2005). Évaluation des ressources forestières mondiales 2005. Etude Thématique sur les mangroves. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.
- FAO (2007). The world's mangroves 1980-2005. *FAO Forestry Paper* **153**, 1-43.
- Feller, I. C., McKee, K. L., Whigham, D. F., et O'Neill, J. P. (2003a). Nitrogen vs. phosphorus

- limitation across an ecotonal gradient in a mangrove forest. *Biogeochemistry* **62**, 145-175.
- Feller, I. C., Whigham, D. F., Mckee, K. L., et Lovelock, C. E. (2003b). Nitrogen limitation of growth and nutrient dynamics in a disturbed mangrove forest, Indian River Lagoon, Florida. *Oecologia* **134**, 405-414.
- Fenchel, T., et Bernard, C. (1995). Mats of colourless sulphur bacteria. I. Major microbial processes. *Marine Ecology Progress Series* **128**, 161-170. doi:10.3354/meps128161
- Fernandes, S. O. ., Bharathi, P. A. L. ., Bonin, P. C. ., et Michotey, V. D. . (2010). Denitrification: An important pathway for nitrous oxide production in tropical mangrove sediments (Goa, India). *Journal of Environmental Quality* **39**, 1507-1516.
- Fernandes, S. O., Bonin, P. C., Michotey, V. D., Garcia, N., et Lokabharathi, P. A. (2012a). Nitrogen-limited mangrove ecosystems conserve N through dissimilatory nitrate reduction to ammonium. *Scientific Reports* **2**.
- Fernandes, S. O., Dutta, P., Gonsalves, M. J., Bonin, P. C., Lokabharathi, P. A., Oliveira, S., Dutta, P., Gonsalves, M. J., Bonin, P. C., et Lokabharathi, P. A. (2016). Denitrification activity in mangrove sediments varies with associated vegetation. *Ecological Engineering* **95**, 671-681.
- Fernandes, S. O., Kirchman, D. L., Michotey, V. D., Bonin, P. C., et Lokabharathi, P. A. (2014). Bacterial diversity in relatively pristine and anthropogenically-influenced mangrove ecosystems (Goa , India). **1171**, 1161-1171.
- Fernandes, S. O., et Loka Bharathi, P. A. (2011). Nitrate levels modulate denitrification activity in tropical mangrove sediments (Goa, India). *Environmental Monitoring and Assessment* **173**, 117-125.
- Fernandes, S. O., Michotey, V. D., Guasco, S., Bonin, P. C., et Loka Bharathi, P. A. (2012b). Denitrification prevails over anammox in tropical mangrove sediments (Goa, India). *Marine Environmental Research* **74**, 9-19.
- Fisher, J., et Acreman, M. C. (2004). Wetland nutrient removal : a review of the Wetland nutrient removal : a review of the evidence. *Hydrology and Earth System Sciences* **8**, 673-685.
- Fossing, H., Gallardo, V. A., Jørgensen, B. B., Hüttl, M., Nielsen, L. P., Schulz, H., Canfield, D. E., Forster, S., Glud, R. N., Gundersen, J. K., Küver, J., Ramsing, N. B., Teske, A.,

- Thamdrup, B., et Ulloa, O. (1995). Concentration and transport of nitrate by the mat-forming sulphur bacterium *Thioploca*. *Nature* **374**, 713-715.
- Friesen, S. D., Dunn, C., et Freeman, C. (2018). Decomposition as a regulator of carbon accretion in mangroves: A review. *Ecological Engineering* **114**, 173-178.
- Froelich, P. N., Klinkhammer, G. P., Bender, M. L., Luedtke, N. A., Heath, G. R., Cullen, D., Dauphin, P., Hammond, D., Hartman, B., et Maynard, V. (1979). Early oxidation of organic matter in pelagic sediments of the eastern equatorial Atlantic: suboxic diagenesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **43**, 1075-1090.
- Fry, B. (2010). « Stable Isotope Ecology ».
- Galloway, J. N., Townsend, A. R., Erisman, J. W., Bekunda, M., Cai, Z., Freney, J. R., Martinelli, L. A., Seitzinger, S. P., et Sutton, M. A. (2008). Transformation of the Nitrogen Cycle: Recent Trends, Questions, and Potential Solutions. *Science* **320**, 889-892.
- Galloway, J. N., Winiwarter, W., Leip, A., Leach, A. M., Bleeker, A., et Erisman, J. W. (2014). Nitrogen footprints: past, present and future. *Environmental Research Letters* **9**, 115003.
- García-Robledo, E., Corzo, A., et Papaspyrou, S. (2014). A fast and direct spectrophotometric method for the sequential determination of nitrate and nitrite at low concentrations in small volumes. *Marine Chemistry* **162**, 30-36.
- Gardner, L. M., et White, J. R. (2010). Denitrification Enzyme Activity as an Indicator of Nitrate Movement through a Diversion Wetland. *Soil Science Society of America Journal* **74**, 1037-1047.
- Ghizelini, A. M., Mendonça-Hagler, L. C. S., et Macrae, A. (2012). Microbial Diversity In Brazilian Mangrove Sediment– A Mini Review. *Brazilian Journal of Microbiology* **43**, 1242-1254.
- Giblin, A. E., Tobias, C. R., Song, B., Weston, N., Banta, G. T., et Rivera-Monroy, V. H. (2013). The importance of dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) in the nitrogen cycle of coastal ecosystems. *Oceanography* **26**, 124-131.
- Giblin, A. E., Weston, N. B., Banta, G. T., Tucker, J., et Hopkinson, C. S. (2010). The Effects of Salinity on Nitrogen Losses from an Oligohaline Estuarine Sediment. *Estuaries and Coasts* **33**, 1054-1068.

- Gilman, E., et Ellison, J. (2007). Efficacy of alternative low-cost approaches to mangrove restoration, American Samoa. *Estuaries and Coasts* **30**, 641-651.
- Giri, C., Ochieng, E., Tieszen, L. L., Zhu, Z., Singh, A., Loveland, T., Masek, J., et Duke, N. (2011). Status and distribution of mangrove forests of the world using earth observation satellite data. *Global Ecology and Biogeography* **20**, 154-159.
- Giry, F., Binet, T., et Keurmeur, N. (2017). Les bénéfices de la protection des mangroves de l'outre-mer français par le Conservatoire du littoral: une évaluation économique à l'horizon 2040. *Etudes caribéennes* **36**, 1-32.
- Gontharet, S., Crémière, A., Blanc-Valleron, M.-M., Sebilo, M., Gros, O., Laverman, A. M., et Dessailly, D. (2017). Sediment characteristics and microbial mats in a marine mangrove, Manche-à-eau lagoon (Guadeloupe). *Journal of Soils and Sediments* **17**, 1999-2010.
- Grant, J., et Bathmann, U. V (1987). Swept away: resuspension of bacterial mats regulates benthic-pelagic exchange of sulfur. *Science* **236**, 1472-1474.
- Greene, E. A., Hubert, C., Nemati, M., Jenneman, G. E., et Voordouw, G. (2003). Nitrite reductase activity of sulphate-reducing bacteria prevents their inhibition by nitrate-reducing, sulphide-oxidizing bacteria. *Environmental Microbiology* **5**, 607-617.
- Gruber, N. (2008). The Marine Nitrogen Cycle: Overview and Challenges. In « Nitrogen in the Marine Environment ». (Éd G. D. Capone, D. A. Bronk, M. R. Mulholland, et E. J. Carpenter.) p. 1-50. (Academic Press.)
- Gu, C., Laverman, A. M., Pallud, C. E., Bouskill, N., Berkeley, L., Caroline, S., et Haaijer, M. (2012). Environmental controls on nitrogen and sulfur cycles in surficial aquatic sediments. *Frontiers in Microbiology* **3**, 1-11.
- Guan, Q. S., Cao, W. Z., Wang, M., Wu, G. J., Wang, F. F., Jiang, C., Tao, Y. R., et Gao, Y. (2018). Nitrogen loss through anaerobic ammonium oxidation coupled with iron reduction in a mangrove wetland. *European Journal of Soil Science* **69**, 732-741.
- Guiral (1999). « Rivières du Sud ».
- Habicht, K. S., et Canfield, D. E. (1997). Sulfur isotope fractionation during bacterial sulfate reduction in organic-rich sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **61**, 5351-5361.

- Habicht, K. S., et Canfield, D. E. (1996). Sulphur isotope fractionation in modern microbial mats and the evolution of the sulphur cycle. *Nature* **382**, 342-343.
- Hang, Q., Wang, H., Chu, Z., Ye, B., Li, C., et Hou, Z. (2016). Application of plant carbon source for denitrification by constructed wetland and bioreactor: review of recent development. *Environmental Science and Pollution Research* **23**, 8260-8274.
- Hansen, H. P., et Koroleff, F. (1999). Determination of nutrients. In « Methods of Seawater Analysis ». (Éd Verlag Chemie.) p. 159-228. (Weinheim.)
- Harris, D., Horwáth, W. R., et van Kessel, C. (2001). Acid fumigation of soils to remove carbonates prior to total organic carbon or Carbon-13 isotopic analysis. *Soil Science Society of America Journal* **65**, 1853-1856.
- Hatton, S. C. M. C., Barry, J. P., Jannasch, H. W., et Nelson, D. C. (1996). High Nitrate Concentrations in Vacuolate , Autotrophic Marine Beggiatoa spp . *Applied and Environmental Microbiology* **62**, 954-958.
- Henze, M., et Comeau, Y. (2008). Wastewater Characterization. *Biological Wastewater Treatment: Principles Modelling and Design.*, 33-52.
- Herbert, R. A. (1999). Nitrogen cycling in coastal marine ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews* **23**, 563-590.
- Herteman, M. (2010). Evaluation des capacités bioremédiatrices d'une mangrove impactée par des eaux usées domestiques. Application au site pilote de Malamani, Mayotte. Université de Toulouse.
- Hines, M., et Lyons, W. (1982). Biogeochemistry of Nearshore Bermuda Sediments. I. Sulfate Reduction Rates and Nutrient Generation . *Marine Ecology Progress Series* **8**, 87-94.
- Holguin, G., Vazquez, P., et Bashan, Y. (2001). The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: An overview. *Biology and Fertility of Soils* **33**, 265-278.
- Holmer, M., Andersen, F. O., Holmboe, N., Kristensen, E., et Thongtham, N. (2001a). Spatial and temporal variability in benthic processes along a mangrove-seagrass transect near the Bangrong mangrove, Thailand. *Wetlands Ecology and Management* **9**, 141-158.
- Holmer, M., Andersen, F. O., Nielsen, S. L., et Boschker, H. T. S. (2001b). The importance of

- mineralization based on sulfate reduction for nutrient regeneration in tropical seagrass sediments. *Aquatic Botany* **71**, 1-17.
- Holmer, M., Kristensen, E., Banta, G., Hansen, K. I. M., Jensen, M. H., et Bussawarit, N. (1994). Biogeochemical cycling of sulfur and iron in sediments of a south-east Asian mangrove, Phuket Island, Thailand. *Biogeochemistry* **26**, 145-161.
- Hoor, A. T.-T. (1974). Sulfide interaction on colorimetric nitrite determination. *Marine Chemistry* **2**, 149-151.
- Howard-Williams, C. (1985). Cycling of nitrogen and phosphorous in wetlands: a theoretical and applied perspective. *Freshwater Biology* **15**, 391-431.
- Howarth, R. W. (1984). The ecological significance of sulfur in the energy dynamics of salt marsh and coastal marine sediments. *Biogeochemistry* **1**, 5-27.
- Howarth, R. W., Billen, G., Swaney, D., Townsend, A., Jaworski, N., Lajtha, K., Downing, J. a., Elmgren, R., Caraco, N., Jordan, T., Berendse, F., Freney, J., Kudeyarov, V., Murdoch, P., et Zhao-Liang, Z. (1996). Regional nitrogen budgets and riverine N & P fluxes for the drainages to the North Atlantic Ocean: Natural and human influences. *Biogeochemistry* **35**, 75-139.
- Howarth, R. W., et Giblin, A. (1983). Sulfate reduction in the salt marshes at Sapelo Island, Georgia. *Limnology and Oceanography* **28**, 70-82.
- Hume, N. P., Fleming, M. S., et Horne, A. J. (2002). Denitrification Potential and Carbon Quality of Four Aquatic Plants in Wetland Microcosms. *Soil Science Society of America Journal* **66**, 1706-1712.
- Inoue, T., Nohara, S., Takagi, H., et Anzai, Y. (2011). Contrast of nitrogen contents around roots of mangrove plants. *Plant and Soil* **339**, 471-483.
- Islas-Lima, S., Thalasso, F., et Gómez-Hernandez, J. (2004). Evidence of anoxic methane oxidation coupled to denitrification. *Water research* **38**, 13-16.
- Jacinthe, P.-A., et Groffman, P. M. (2006). Microbial nitrogen cycling processes in a sulfidic coastal marsh. *Wetlands Ecology and Management* **14**, 123-131.
- Jansson, M., Andersson, R., Berggren, H., et Leonardson, L. (1994). Wetlands and lakes as nitrogen traps. *Ambio* **23**, 503-511.

- Jean, M. R. N. (2013). Etude de la matre sulfo-oxydante de la mangrove de Guadeloupe : Caractérisation des micro-organismes principaux des familles Beggiatoaceae et Oscillatoriaceae. Université des Antilles et de la Guyane.
- Jean, M. R. N., Gonzalez-Rizzo, S., Gauffre-Autelin, P., Lengger, S. K., Schouten, S., et Gros, O. (2015). Two new Beggiatoa species inhabiting marine mangrove sediments in the Caribbean. *PLoS one* **10**, e0117832.
- Jenneman, G. E., McInerney, M. J., et Knapp, R. M. (1986). Effect of nitrate on biogenic sulfide production. *Applied and Environmental Microbiology* **51**, 1205-1211. Available at: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0022466407&partnerID=tZOtx3y1>
- Jetten, M. S. M. (2008). The microbial nitrogen cycle. *Environmental Microbiology* **10**, 2903-2909.
- Jørgensen, B. (1983). Processes at the sediment-water interface. In « The major biogeochemical cycles and their interactions (SCOPE Report) ». (Éd B. Bolin et R. B. Cook.) p. 477-509. (John Wiley & Sons Ltd; 1st Edition edition (September 7, 1983): Stockholm.)
- Jørgensen, B. B. (2010). Big sulfur bacteria. *The ISME Journal* **4**, 1083-1084.
- Jørgensen, B. B. (1977a). Distribution of Colorless Sulfur Bacteria (Beggiatoa-Spp) in a Coastal Marine Sediment. *Marine Biology* **41**, 19-28.
- Jørgensen, B. B. (1977b). Distribution of Colorless Sulfur Bacteria a Coastal Marine Sediment. *Marine Biology* **28**, 19-28.
- Jørgensen, B. B., Findlay, A. J., et Pellerin, A. (2019). The Biogeochemical Sulfur Cycle of Marine Sediments. *Frontiers in Microbiology* **10**, 1-27.
- Jørgensen, B. B., et Nelson, D. C. (2004). Sulfide oxidation in marine sediments: Geochemistry meets microbiology. In « Special Paper 379: Sulfur Biogeochemistry - Past and Present ». p. 63-81
- Jørgensen, B. B., et Parkes, R. J. (2010). Role of sulfate reduction and methane production by organic carbon degradation in eutrophic fjord sediments (Limfjorden, Denmark). *Limnology and Oceanography* **55**, 1338-1352.

- Kaiser, D., Kowalski, N., Böttcher, M. E., Yan, B., et Unger, D. (2015). Benthic Nutrient Fluxes from Mangrove Sediments of an. *Journal of Marine Science and Engineering* **3**, 466-491.
- Kaly, U. L., et Jones, G. P. (1998). Mangrove Restoration: A Potential Tool for Coastal Management in Tropical Developing Countries. *Ambio* **27**, 656-661.
- Kamaleson, A. S., et Gonsalves, M.-J. (2019). Role of sulfur-oxidizing bacteria on the ecology in tropical mangrove sediments. *Regional Studies in Marine Science*, 100574.
- Kamp, A., Stief, P., et Schulz-Vogt, H. N. (2006). Anaerobic sulfide oxidation with nitrate by a freshwater Beggiatoa enrichment culture. *Applied and Environmental Microbiology* **72**, 4755-4760.
- Kasten, S., et Jørgensen, B. B. (2000). Sulfate Reduction in Marine Sediments. In « Marine Geochemistry ». (Éd H. D. Schulz et M. Zabel.) p. 263-281. (Springer Berlin Heidelberg.)
- Kathiresan, K. (2004). Ecology and Environment of Mangrove Ecosystems. In « Advances in Marine Biology ». (Éd Kathiresan K et J. SA.) p. 76-89. (Annamalai University, Parangipettai.)
- Kathiresan, K., et Bingham, B. L. (2001). Biology of mangroves and mangrove Ecosystems. *Advances in Marine Biology* **40**, 81-251.
- Kathiresan, K., et Selvam, M. M. (2006). Evaluation of beneficial bacteria from mangrove soil. *Botanica Marina* **49**, 86-88.
- Kelleway, J. J., Cavanaugh, K., Rogers, K., Feller, I. C., Ens, E., Doughty, C., et Saintilan, N. (2017). Review of the ecosystem service implications of mangrove encroachment into salt marshes. *Global Change Biology* **00**, 1-18.
- Keuskamp, J. A., Feller, I. C., Laanbroek, H. J., Verhoeven, J. T. A., et Hefting, M. M. (2015). Short- and long-term effects of nutrient enrichment on microbial exoenzyme activity in mangrove peat. *Soil Biology and Biochemistry* **81**, 38-47.
- Khan, N. S., Vane, C. H., et Horton, B. P. (2015). Stable carbon isotope and C/N geochemistry of coastal wetland sediments as a sea-level indicator. In « Handbook of Sea-Level Research ». p. 295-311
- King, D., et Nedwell, D. B. (1985). The influence of nitrate concentration upon the end-

- products of nitrate dissimilation by bacteria in anaerobic salt marsh sediment. *FEMS Microbiology Letters* **31**, 23-28.
- Kivaisi, A. K. (2001). The potential for constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in developing countries: A review. *Ecological Engineering* **16**, 545-560.
- Knowles, R. (1982). Denitrification. *Microbiological reviews* **46**, 43-70.
- Koroleff, F. (1970). Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue.
- Koroleff, F. (1966). Direct spectrophotometric determination of ammonia in precipitation. *Tellus A* **18**, 562-565.
- Kraft, B., Strous, M., et Tegetmeyer, H. E. (2011). Microbial nitrate respiration - Genes, enzymes and environmental distribution. *Journal of Biotechnology* **155**, 104-117.
- Kraft, B., Tegetmeyer, H. E., Sharma, R., Klotz, M. G., Ferdelman, T. G., Hettich, R. L., Geelhoed, J. S., et Strous, M. (2014). The environmental controls that govern the end product of bacterial nitrate respiration. *Science* **345**, 676-679.
- Kristensen, E. (2000). Organic matter diagenesis at the oxic/anoxic interface in coastal marine sediments, with emphasis on the role of burrowing animals. In « *Hydrobiologia* ». p. 1-24
- Kristensen, E., Andersen, F. Ø. F., Holmboe, N., Holmer, M., et Thongtham, N. (2000). Carbon and nitrogen mineralization in sediments of the Bangrong mangrove area, Phuket, Thailand. *Aquatic Microbial Ecology* **22**, 199-213.
- Kristensen, E., Bouillon, S., Dittmar, T., et Marchand, C. (2008). Organic carbon dynamics in mangrove ecosystems: A review. *Aquatic Botany* **89**, 201-219.
- Kristensen, E., Connolly, R. M., Otero, X. L., Marchand, C., Ferreira, T. O., et Rivera-Monroy, V. H. (2017). Biogeochemical cycles: Global approaches and perspectives. In « *Mangrove Ecosystems: A Global Biogeographic Perspective: Structure, Function, and Services* ». p. 163-209
- Kristensen, E., Devol, A. H., Ahmed, S. I., et Saleem, M. (1992). Preliminary study of benthic metabolism and sulfate reduction in a mangrove swamp of the Indus Delta, Pakistan. *Marine Ecology Progress Series* **90**, 287-297.
- Kristensen, E., Holmer, M., Banta, G. T., Jensen, M. H., et Hansen, K. (1995). Carbon, nitrogen and sulfur cycling in sediments of the Bangrong mangrove forest. *Phuket Marine Biology*

- Kristensen, E., Holmer, M., et Bussarawit, N. (1991). Benthic metabolism and sulfate reduction in a southeast-Asian mangrove swamp. *Marine Ecology Progress Series* **73**, 93-103.
- Kumar, U., Panneerselvam, P., Gupta, V. V. S. R., Manjunath, M., Priyadarshinee, P., Sahoo, A., Dash, S. R., Kaviraj, M., et Annapurna, K. (2018). Diversity of Sulfur-Oxidizing and Sulfur-Reducing Microbes in Diverse Ecosystems. In « Springer Nature Singapore ». p. 65-89
- Lallier-Vergès, E., Marchand, C., Disnar, J. R., et Lottier, N. (2008). Origin and diagenesis of lignin and carbohydrates in mangrove sediments of Guadeloupe (French West Indies): Evidence for a two-step evolution of organic deposits. *Chemical Geology* **255**, 388-398.
- Lallier-Verges, E., Perrussel, B.-P., Disnar, J.-R., et Baltzer, F. (1997). Relationship between the degree of preservation of organic matter derived from higher plants and the physico-chemical conditions of groundwaters in a present mangroves swamp system (Guadeloupe, French West Indies). *Organic Geochemistry* **29**, 1663-1686.
- Lamb, A. L., Wilson, G. P., et Leng, M. J. (2006). A review of coastal palaeoclimate and relative sea-level reconstructions using $\delta^{13}\text{C}$ and C/N ratios in organic material. *Earth-Science Reviews* **75**, 29-57.
- Lambs, L., Léopold, A., Zeller, B., Herteman, M., et Fromard, F. (2011). Tracing sewage water by ^{15}N in a mangrove ecosystem to test its bioremediation ability. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **25**, 2777-2784.
- Laverman, A. M., Van Cappellen, P., Van Rotterdam-Los, D., Pallud, C., et Abell, J. (2006). Potential rates and pathways of microbial nitrate reduction in coastal sediments. *FEMS Microbiology Ecology* **58**, 179-192.
- Laverman, A. M., Meile, C., Van Cappellen, P., et Wieringa, E. B. A. (2007). Vertical distribution of denitrification in an estuarine sediment: Integrating sediment flowthrough reactor experiments and microprofiling via reactive transport modeling. *Applied and Environmental Microbiology* **73**, 40-47.
- Laverman, A. M., Morelle, J., Roose-Amsaleg, C., et Pannard, A. (2021). Estuarine benthic nitrate reduction rates: Potential role of microalgae? *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **257**, 107394.

- Lee, C. G., Sun, G., et Fletcher, T. D. (2009). Nitrogen removal in constructed wetland systems. *Engineering in Life Sciences* **9**, 11-22.
- Lee, R. Y., et Joye, S. B. (2006). Seasonal patterns of nitrogen fixation and denitrification in oceanic mangrove habitats. *Marine Ecology Progress Series* **307**, 127–141.
- Lee, R. Y., Porubsky, W. P., Feller, I. C., McKee, K. L., et Joye, S. B. (2008). Porewater biogeochemistry and soil metabolism in dwarf red mangrove habitats (Twin Cays, Belize). *Biogeochemistry* **87**, 181-198.
- Lee, S. Y., Primavera, J. H., Dahdouh-Guebas, F., McKee, K., Bosire, J. O., Cannicci, S., Diele, K., Fromard, F., Koedam, N., Marchand, C., Mendelssohn, I., Mukherjee, N., et Record, S. (2014). Ecological role and services of tropical mangrove ecosystems: A reassessment. *Global Ecology and Biogeography* **23**, 726-743.
- Lehmann, M., Bernasconi, S., Barbieri, a, et McKenzie, J. (2002). Preservation of organic matter and alteration of its carbon and nitrogen isotope composition during *Geochimica et Cosmochimica Acta* **66**, 3573-3584.
- Lens, P. N. L., et Kuenen, J. G. (2001). The biological sulfur cycle: Novel opportunities for environmental biotechnology. *Water Science and Technology* **44**, 57-66.
- Lewis, R. R. (2009). Chapter 28 - Methods and Criteria for Successful Mangrove Forest Restoration. In « COASTAL WETLANDS: An Integrated Ecosystem Approach ». p. 787-800. (Elsevier.)
- Li, P., Li, S., Zhang, Y., Cheng, H., Zhou, H., Qiu, L., et Diao, X. (2018). Seasonal variation of anaerobic ammonium oxidizing bacterial community and abundance in tropical mangrove wetland sediments with depth. *Applied Soil Ecology* **130**, 149-158.
- Li, X., Hou, L., Liu, M., Zheng, Y., Yin, G., Lin, X., Cheng, L., Li, Y., et Hu, X. (2015). Evidence of Nitrogen Loss from Anaerobic Ammonium Oxidation Coupled with Ferric Iron Reduction in an Intertidal Wetland. *Environmental Science and Technology* **49**, 11560-11568.
- Lin, B. B., et Dushoff, J. (2004). Mangrove filtration of anthropogenic nutrients in the Rio Coco Solo, Panama. *Management of Environmental Quality: An International Journal* **15**, 131-142.
- Lin, X., Hetharua, B., Lin, L., Xu, H., Zheng, T., He, Z., et Tian, Y. (2019). Mangrove Sediment

- Microbiome: Adaptive Microbial Assemblages and Their Routed Biogeochemical Processes in Yunxiao Mangrove National Nature Reserve, China. *Microbial Ecology* **78**, 57-69.
- Lin, X., Hou, L., Liu, M., Li, X., Yin, G., Zheng, Y., et Deng, F. (2016a). Gross nitrogen mineralization in surface sediments of the Yangtze Estuary. *PLoS ONE* **11**, 1-16.
- Lin, X., Hou, L., Liu, M., Li, X., Zheng, Y., Yin, G., Gao, J., et Jiang, X. (2016b). Nitrogen mineralization and immobilization in sediments of the East China Sea: Spatiotemporal variations and environmental implications. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* **121**, 2842-2855.
- Loka Bharathi, P. A. (2008). Sulfur Cycle. In « Encyclopedia of Ecology, Five-Volume Set ». p. 3424-3431. (Elsevier.)
- Lu, S., Hu, H., Sun, Y., et Yang, J. (2009). Effect of carbon source on the denitrification in constructed wetlands. *Journal of Environmental Sciences* **21**, 1036-1043.
- Lugo, A. E. (1980). Mangrove ecosystems: Successional or steady state? *Biotropica* **12**, 65-72.
- Lugo, A. E., et Snedaker, S. C. (1974). The Ecology of Mangroves. *Annual Review of Ecology and Systematics* **5**, 39-64.
- Luo, L., Han, M., Wu, R. nan, et Gu, J. D. (2017). Impact of nitrogen pollution/deposition on extracellular enzyme activity, microbial abundance and carbon storage in coastal mangrove sediment. *Chemosphere* **177**, 275-283.
- Luo, M., Zhu, W., Huang, J., Liu, Y., Duan, X., Wu, J., et Tong, C. (2019). Anaerobic organic carbon mineralization in tidal wetlands along a low-level salinity gradient of a subtropical estuary: Rates, pathways, and controls. *Geoderma* **337**, 1245-1257.
- Luther, G. W., Sundby, B., Lewis, B. L., Brendel, P. J., et Silverberg, N. (1997). Interactions of manganese with the nitrogen cycle-Alternative pathways to N₂.pdf. *Geochirrnica et Cosmochimica Acta* **61**, 4043-4052.
- Luvizotto, D. M., Araujo, J. E., De, M., Silva, C. P., Dias, A. C. F., Kraft, B., Tegetmeyer, H., Strous, M., et Andreote, F. D. (2018). The rates and players of denitrification, dissimilatory nitrate reduction to ammonia (DNRA) and anaerobic ammonia oxidation (anammox) in mangrove soils. *An Acad Bras Cienc* **90**.

- Macnae, W. (1969). A General Account of the Fauna and Flora of Mangrove Swamps and Forests in the Indo-West-Pacific Region. *Advances in Marine Biology* **6**, 73-270.
- Madsen, E. L. (2011). Microorganisms and their roles in fundamental biogeochemical cycles. *Current Opinion in Biotechnology* **22**, 456-464.
- Mantran, M., Hamparian, R., et Bouchereau, J.-L. (2009). Geomorphology and hydrology of the manche-à-eau lagoon (guadeloupe, french west indies). *Geomorphologie: Relief, Processus, Environnement* **3**, 199-210.
- Mantran, M., Hamparian, R., Bouchereau, J., Mantran, M., Hamparian, R., et Evolution, J. B. (2008). Evolution morphologique de la lagune à mangrove de la Manche-à-Eau (Guadeloupe , Antilles Françaises) de 1950-2004 , et sa bathymétrie et sa courantologie en 2007. In « 61st Gulf and Caribbean Fisheries Institute ». p. 287-297. (Gosier.)
- Mara, D. (2003). « Domestic Wastewater Treatment in Developing Countries ». (Earthscan.)
- Marchand, C., Lallier-Vergès, E., et Baltzer, F. (2003). The composition of sedimentary organic matter in relation to the dynamic features of a mangrove-fringed coast in French Guiana. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **56**, 119-130.
- Mazéas, L., Vigneron, V., Le-Ménach, K., Budzinski, H., Audic, J.-M., Nicolas, B., et Bouchez, T. (2008). Elucidation of nitrate reduction pathways in anaerobic bioreactors using a stable isotope approach. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **22**, 1746-1750.
- McCready, R. G. L., Gould, W. D., et Barendregt, R. W. (1983). Nitrogen isotope fractionation during the reduction of NO₃⁻ to NH₄⁺ by *Desulfovibrio* sp. *Canadian Journal of Microbiology* **29**, 231-234.
- McKee, K. L., et Faulkner, P. L. (2000). Restoration of biogeochemical function in mangrove forests. *Restoration Ecology* **8**, 247-259.
- McKee, K. L., Feller, I. C., Popp, M., et Wanek, W. (2002). Mangrove isotopic ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) fractionation across a nitrogen vs. phosphorus limitation gradient. *Ecology* **83**, 1065-1075.
- McKee, K. L., Mendelsohn, I. A., et Hester, M. W. (1988). Reexamination of Pore Water Sulfide Concentrations and Redox Potentials Near the Aerial Roots of *Rhizophora* mangle and *Avicennia germinans*. *American Journal of Botany* **75**, 1352-1359.

- Meli, P., Benayas, J. M. R., Balvanera, P., et Ramos, M. M. (2014). Restoration enhances wetland biodiversity and ecosystem service supply, but results are context-dependent: A meta-analysis. *Plos One* **9**, e93507.
- Meyer, R. L., Allen, D. E., et Schmidt, S. (2008). Nitrification and denitrification as sources of sediment nitrous oxide production: A microsensors approach. *Marine Chemistry* **110**, 68-76.
- Meyer, R. L., Risgaard-Petersen, N., et Allen, D. E. (2005). Correlation between anammox activity and microscale distribution of nitrite in a subtropical mangrove sediment. *Applied and Environmental Microbiology* **71**, 6142-6149.
- Middelburg, J., Vlug, T., et Van Der Nat, J. F. W. A. (1993). Organic-Matter Mineralization in Marine Systems. *Global and Planetary Change* **8**, 47-58.
- Middelburg, Klaver, G., Nieuwenhuize, J., Wielemaker, A., De Haas, W., Vlug, T., et Van Der Nat, J. F. W. A. (1996a). Organic matter mineralization in intertidal sediments along an estuarine gradient. *Marine Ecology Progress Series* **132**, 157-168.
- Middelburg, Nieuwenhuize, J., Slim, F. J., et Ohowa, B. (1996b). Sediment biogeochemistry in an East African mangrove forest (Gazi Bay, Kenya). *Biogeochemistry* **34**, 133-155.
- Molnar, N. (2011). Impact des effluents de la crevetticulture sur la dynamique de la matière organique benthique et leurs implications sur les processus biogéochimiques dans une mangrove (Nouvelle-Calédonie). Museum National D'Histoire Naturelle.
- Moreno, M. O. (2015). Variabilité spatiale et temporelle des cycles biogéochimiques à l'interface eau-sédiment dans la lagune de Términos, Mexique. Université Aix-Marseille.
- Mothet, A. (2013). Approches isotopiques intégrées du processus de dénitrification. Université Pierre et Marie Curie.
- Mothet, A., Sebilo, M., Laverman, A. M., Vaury, V., et Mariotti, A. (2013). Is site preference of N₂O a tool to identify benthic denitrifier N₂O. *Environmental Chemistry* **10**, 281-284.
- Mußmann, M., Hu, F. Z., Richter, M., De Beer, D., Preisler, A., Jørgensen, B. B., Huntemann, M., Glöckner, F. O., Amann, R., Koopman, W. J. H., Lasken, R. S., Janto, B., Hogg, J., Stoodley, P., Boissy, R., et Ehrlich, G. D. (2007). Insights into the genome of large sulfur bacteria revealed by analysis of single filaments. *PLoS Biology* **5**, e230.

- Mußmann, M., Schulz, H., Strotmann, B., Kjaer, T., Nielsen, L. P., Rossello-Mora, R., Amann, R., et Jørgensen, B. B. (2003). Phylogeny and distribution of nitrate storing *Beggiatoa* spp. in coastal marine sediments. *Environ. Microb.* **5**, 523-533.
- Nedwell, D. B., Blackburn, T. H., et Wiebe, W. J. (1994). Dynamic nature of the turnover of organic carbon, nitrogen and sulphur in the sediments of a Jamaican mangrove forest. *Marine Ecology Progress Series* **110**, 223-231.
- Nelson, D. C., et Jannasch, H. W. (1983). Chemoautotrophic growth of a marine *Beggiatoa* in sulfide-gradient cultures. *Archives of Microbiology* **136**, 262-269.
- Nelson, D. C., Jørgensen, B. B., Revsbech, N. P., et Al, N. (1986). Growth Pattern and Yield of a Chemoautotrophic *Beggiatoa* sp . in Oxygen-Sulfide Microgradients. *Applied and Environmental Microbiology* **52**, 225-233.
- Newell, S. Y. Y., Fell, J. W. W., Statzell-Tallman, A., Miller, C., et Cefalu, R. (1984). Carbon and nitrogen dynamics in decomposing leaves of three coastal marine vascular plants of the subtropics. *Aquatic Botany* **19**, 183-192.
- Nichols, D. S. (1983). Capacity remove to from of natural nutrients wetlands wastewater. *Water Pollution Control Federation* **55**, 495-505.
- Nielsen, L. P. (1992). Denitrification in sediment determined from nitrogen isotope pairing. *FEMS Microbiology Letters* **86**, 357-362.
- Nikolenko, O., Jurado, A., Borges, A. V, Knöllner, K., et Brouyère, S. (2018). Isotopic composition of nitrogen species in groundwater under agricultural areas: A review. *Science of the Total Environment* **621**, 1415-1432. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.10.086
- Odum, E. P. (2000). Tidal marshes as outwelling/pulsing systems. *Concepts and Controversies in Tidal Marsh Ecology*, 3-7.
- Otero, X. L., Ferreira, T. O., Vidal-Torrado, P., et Macías, F. (2006). Spatial variation in pore water geochemistry in a mangrove system (Pai Matos island, Cananeia-Brazil). *Applied Geochemistry* **21**, 2171-2186.
- Pallud, C., et Van Cappellen, P. (2006). Kinetics of microbial sulfate reduction in estuarine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **70**, 1148-1162.
- Pallud, C., Meile, C., Laverman, A. M., Abell, J., et Van Cappellen, P. (2007). The use of flow-

- through sediment reactors in biogeochemical kinetics: Methodology and examples of applications. *Marine Chemistry* **106**, 256-271.
- Pandey, C. B., Kumar, U., Kaviraj, M., Minick, K. J., Mishra, A. K., et Singh, J. S. (2020). DNRA: A short-circuit in biological N-cycling to conserve nitrogen in terrestrial ecosystems. *Science of the Total Environment* **738**, 139710.
- Parida, A. K., et Jha, B. (2010). Salt tolerance mechanisms in mangroves: A review. *Trees* **24**, 199-217.
- Pascal, P., Dubois, S., Boschker, H., et Gros, O. (2014). Trophic role of large benthic sulfur bacteria in mangrove sediment. *Marine Ecology Progress Series* **516**, 127-138.
- Pédro, G. (2007). « Cycles biogéochimiques et écosystèmes continentaux ».
- Peixoto de Albuquerque, J., Neumann Keim, C., et Lins, U. (2010). Comparative analysis of *Beggiatoa* from hypersaline and marine environments. *Micron* **41**, 507-517.
- Polidoro, B. A., Carpenter, K. E., Collins, L., Duke, N. C., Ellison, A. M., Ellison, J. C., Farnsworth, E. J., Fernando, E. S., Kathiresan, K., Koedam, N. E., Livingstone, S. R., Miyagi, T., Moore, G. E., Nam, V. N., Ong, J. E., Primavera, J. H., Salmo, S. G., Sanciangco, J. C., Sukardjo, S., Wang, Y., et Yong, J. W. H. (2010). The loss of species: Mangrove extinction risk and geographic areas of global concern. *PLoS ONE* **5**.
- Pramanik, A., Sengupta, S., et Bhattacharyya, M. (2018). Microbial Diversity and Community Analysis of the Sundarbans Mangrove, a World Heritage Site. In « Microbial Diversity in the Genomic Era ». p. 65-76. (Elsevier Inc.)
- Prasad, M. B. K., Ramanathan, A. L., Krishna Prasad, M. B., et Ramanathan, A. L. (2008). Sedimentary nutrient dynamics in a tropical estuarine mangrove ecosystem. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **80**, 60-66.
- Preisler, A., De Beer, D., Lichtschlag, A., Lavik, G., Boetius, A., et Jørgensen, B. B. (2007). Biological and chemical sulfide oxidation in a *Beggiatoa* inhabited marine sediment. *international society for microbial ecology* **1**, 341-353.
- Pulou, J., Tournebize, J., Chaumont, C., Haury, J., et Laverman, A. M. (2012). Carbon availability limits potential denitrification in watercress farm sediment. *Ecological Engineering* **49**, 212-220.

- Purvaja, R., Ramesh, R., Ray, A. K., et Rixen, T. (2008). Nitrogen cycling: A review of the processes, transformations and fluxes in coastal ecosystems. *Current Science* **94**, 1419-1438.
- Rao, K., Priya, N., et Ramanathan, A. (2019). Impacts of Anthropogenic Perturbations on Reactive Nitrogen Dynamics in Mangrove Ecosystem: Climate Change Perspective. *Journal of Climate Change* **5**, 9-21.
- Ratzke, C., et Gore, J. (2018). Modifying and reacting to the environmental pH can drive bacterial interactions. *PLoS Biology* **16**, 1-20.
- Ray, R., Majumder, N., Das, S., Chowdhury, C., et Jana, T. K. (2014). Biogeochemical cycle of nitrogen in a tropical mangrove ecosystem, east coast of India. *Marine Chemistry* **167**, 33-43.
- Raymond, N., Bonin, P., et Bertrand, J. (1992). Comparison of methods for measuring denitrifying activity in marine sediments from the Western Mediterranean coast. *Oceanologica Acta* **15**, 137-143.
- Reeburgh, W. S. (1983). Rates of Biogeochemical Processes in Anoxic Sediments. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* **11**, 269-298.
- Reef, R., Feller, I. C., et Lovelock, C. E. (2010). Nutrition of mangroves. *Tree Physiology* **30**, 1148-1160.
- Regnier, P., Dale, A. W., Pallud, C., Van Lith, Y., Bonneville, S., Hyacinthe, C., Thullner, M., Laverman, A. M., et Van Cappellen, P. (2005). Incorporating geomicrobial processes in reactive transport models of subsurface environments. In « Reactive Transport in Soil and Groundwater: Processes and Models ». p. 109-125
- Reis, C. R. G., Bielefeld, G., Luis André Casarin, R., Simone Aparecida, V., et Rafael Silva, O. (2017a). Nitrogen dynamics in subtropical fringe and basin mangrove forests inferred from stable isotopes. *Oecologia* **183**, 841-848.
- Reis, C. R. G., Nardoto, G. B., et Oliveira, R. S. (2017b). Global overview on nitrogen dynamics in mangroves and consequences of increasing nitrogen availability for these systems. *Plant and Soil* **410**.
- Rios-del Toro, E. E., et Cervantes, F. J. (2016). Coupling between anammox and autotrophic denitrification for simultaneous removal of ammonium and sulfide by enriched marine

- sediments. *Biodegradation* **27**, 107-118.
- Rios-Del Toro, E. E., et Cervantes, F. J. (2019). Anaerobic ammonium oxidation in marine environments: contribution to biogeochemical cycles and biotechnological developments for wastewater treatment. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* **18**, 11-27.
- Rios-Del Toro, E. E., Valenzuela, E. I., López-Lozano, N. E., Cortés-Martínez, M. G., Sánchez-Rodríguez, M. A., Calvario-Martínez, O., Sánchez-Carrillo, S., et Cervantes, F. J. (2018). Anaerobic ammonium oxidation linked to sulfate and ferric iron reduction fuels nitrogen loss in marine sediments. *Biodegradation* **29**, 429-442.
- Risgaard-petersen, N., Nielsen, L. P., Dalsgaard, T., et Meyer, R. L. (2003). Application of the isotope pairing technique in sediments where anammox and denitrification coexist. *Limnology and Oceanography* **1**, 63-73.
- Rivera-Monroy, V. H., et Twilley, R. R. (1996). The relative role of denitrification and immobilization in the fate of inorganic nitrogen in mangrove sediments (Terminos Lagoon, Mexico). *Limnology and Oceanography* **41**, 284-296.
- Rosenfeld, J. K. (1979). Ammonium adsorption in nearshore anoxic sediments. *Limnology and Oceanography* **24**, 356-364.
- Rosenfeld, J. K. (1981). Nitrogen diagenesis in Long Island Sound sediments (USA). *American Journal of Science* **281**, 436-462. doi:10.2475/ajs.281.4.436
- Rysgaard, S., Thastum, P., Dalsgaard, T., Christensen, P. B., Sloth, N. P., et Rysgaard, S. (1999). Effects of Salinity on NH₄⁺ Adsorption Capacity, Nitrification, and Denitrification in Danish Estuarine Sediments. *Estuaries* **22**, 21-30.
- Sahoo, K., et Dhal, N. K. (2009). Potential microbial diversity in mangrove ecosystems : A review. **38**, 249-256.
- Salman, V., Bailey, J. V, et Teske, A. (2013). Phylogenetic and morphologic complexity of giant sulphur bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology* **104**, 169-186. doi:10.1007/s10482-013-9952-y
- Sanders, C. J., Maher, D. T., Tait, D. R., Williams, D., Holloway, C., Sippo, J. Z., et Santos, I. R. (2016). Are global mangrove carbon stocks driven by rainfall? *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* **121**, 2600-2609.

- Sandilyan, S., et Kathiresan, K. (2012). Mangrove conservation: A global perspective. *Biodiversity and Conservation* **21**, 3523-3542.
- Sayama, M. (2001). Presence of Nitrate-Accumulating Sulfur Bacteria and Their Influence on Nitrogen Cycling in a Shallow Coastal Marine Sediment. *Applied and Environmental Microbiology* **67**, 3481-3487.
- Sayama, M., Risgaard-Petersen, N., Nielsen, L. P., Fossing, H., et Christensen, P. B. (2005). Impact of bacterial NO₃ - transport on sediment biogeochemistry. *Applied and Environmental Microbiology* **71**, 7575-7577.
- Schimel, J. P., et Bennet, J. (2004). Nitrogen Mineralization: Challenges of a Changing. *Ecology* **85**, 591-602.
- Schnetger, B., et Lehnert, C. (2014). Determination of nitrate plus nitrite in small volume marine water samples using vanadium(III)chloride as a reduction agent. *Marine Chemistry* **160**, 91-98.
- Schulz, H. N., et Jørgensen, B. B. (2001). Big bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* **55**, 105-137.
- Schutte, C. A., Ahmerkamp, S., Wu, C. S., Seidel, M., de Beer, D., Cook, P. L. M., et Joye, S. B. (2019). Biogeochemical Dynamics of Coastal Tidal Flats. In « Coastal Wetlands ». p. 407-440
- Searle, P. L. (1984). The Berthelot or Indophenol Reaction and Its Use in the Analytical Chemistry of Nitrogen A Review. *Analyst* **109**, 549-568.
- Sebilo, M. (2003). Utilisation du traçage isotopique naturel pour caractériser et quantifier les processus de nitrification et de dénitrification à l' échelle du réseau hydrographique de la Seine. Université Pierre et Marie Curie.
- Sebilo, M., Aloisi, G., Mayer, B., Perrin, E., Vaury, V., Mothet, A., et Laverman, A. M. (2019). Controls on the Isotopic Composition of Nitrite ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{18}\text{O}$) during Denitrification in Freshwater Sediments. *Scientific Reports* **9**, 1-14.
- Sebilo, M., Billen, G., Mayer, B., Billiou, D., Grably, M., Garnier, J., et Mariotti, A. (2006). Assessing nitrification and denitrification in the seine river and estuary using chemical and isotopic techniques. *Ecosystems* **9**, 564-577.
- Sebilo, M., Mayer, B., Grably, M., Billiou, D., et Mariotti, A. (2004). The Use of the

- « Ammonium Diffusion » Method for $\delta^{15}\text{N-NH}_4^+$ and $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ – Measurements: Comparison with Other Techniques. *Environmental Chemistry* **1**, 99-103.
- Shao, M.-F. M., Zhang, T., et Fang, H. H.-P. H. H. (2010). Sulfur-driven autotrophic denitrification: diversity, biochemistry, and engineering applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* **88**, 1027-1042.
- Sharma, S. (2018). « Introductory Chapter: Mangrove Ecosystem Research Trends - Where has the Focus been So Far ».
- Sharrar, A. M., Flood, B. E., Bailey, J. V., Jones, D. S., Biddanda, B. A., Ruberg, S. A., Marcus, D. N., et Dick, G. J. (2017). Novel large sulfur bacteria in the metagenomes of groundwater-fed chemosynthetic microbial mats in the Lake Huron basin. *Frontiers in Microbiology* **8**, 1-15.
- Sherman, R. E., Fahey, T. J., et Howarth, R. W. (1998). Soil-plant interactions in a neotropical mangrove forest: Iron, phosphorus and sulfur dynamics. *Oecologia* **115**, 553-563.
- Shiau, Y. J., Dham, V., Tian, G., et Chiu, C. Y. (2016). Factors Influencing Removal of Sewage Nitrogen Through Denitrification in Mangrove Soils. *Wetlands* **36**, 621-630.
- Shiau, Y. J., Lee, S. C., Chen, T. H., Tian, G., et Chiu, C. Y. (2017). Water salinity effects on growth and nitrogen assimilation rate of mangrove (*Kandelia candel*) seedlings. *Aquatic Botany* **137**, 50-55.
- Siegert, M., Taubert, M., Seifert, J., von Bergen-Tomm, M., Basen, M., Bastida, F., Gehre, M., Richnow, H.-H. H., et Krüger, M. (2013). The nitrogen cycle in anaerobic methanotrophic mats of the Black Sea is linked to sulfate reduction and biomass decomposition. *FEMS microbiology ecology* **86**, 231-45.
- Simon, J. (2002). Enzymology and bioenergetics of respiratory nitrite ammonification. *FEMS Microbiology Reviews* **26**, 285-309.
- Song, G. D., Liu, S. M., Marchant, H., Kuypers, M. M. M., et Lavik, G. (2013). Anammox, denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium in the East China Sea sediment. *Biogeosciences* **10**, 6851-6864.
- Sorensen, J., Rasmussen, L. K., et Koike, I. (1987). Micromolar sulfide concentrations alleviate acetylene blockage of nitrous oxide reduction by denitrifying *Pseudomonas fluorescens*. *Canadian Journal of Microbiology* **33**, 1001-1005.

- Spalding, M. D., Blasco, E., et Field, C. D. (1997). World Mangrove Atlas. *The International Society for Mangrove Ecosystems*, pp 178. doi:10.1017/S0266467498300528
- Stal, L. J. (2001). Coastal microbial mats: The physiology of a small-scale ecosystem. *South African Journal of Botany* **67**, 399-410.
- Streminska, M. A., Felgate, H., Rowley, G., Richardson, D., et Baggs, E. M. (2012). Nitrous oxide production in soil isolates of nitrate-ammonifying bacteria. *Environmental Microbiology reports* **4**, 66-71.
- Strous, M., Kuenen, J. G., Fuerst, J. A., Wagner, M., et Jetten, M. S. M. (2002). The anammox case - A new experimental manifesto for microbiological eco-physiology. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology* **81**, 693-702.
- Strous, M., Kuenen, J. G., et Jetten, M. S. M. (1999). Key physiology of anaerobic ammonium oxidation. *Applied and Environmental Microbiology* **65**, 3248-3250.
- Suman, D. O. (2019). Mangrove Management: Challenges and Guidelines. In « Coastal Wetlands ». p. 1055-1079. (Elsevier B.V.)
- Sweeney, R. E., et Kaplan, I. R. (1980). Natural abundances of ^{15}N as a source indicator for near-shore marine sedimentary and dissolved nitrogen. *Marine Chemistry* **9**, 81-94.
- Sweerts, J. P. R. A., De Beer, D., Nielsen, L. P., Verdouw, H., Van Den Heuvel, J. C., Cohen, Y., et Cappenberg, T. E. (1990). Denitrification by sulphur oxidizing *Beggiatoa* spp. mats on freshwater sediments. *Nature* **344**, 762-763.
- Taillardat, P. (2018). Assessment of porewater discharge in a mangrove tidal creek and assessment of porewater discharge in a mangrove tidal creek and its implications on coastal biogeochemical cycles. National University of Singapore.
- Tam, N. F. Y., et Wong, Y. S. (1996). Retention and distribution of heavy metals in mangrove soils receiving wastewater. *Environmental Pollution* **94**, 283-291.
- Teske, A., De Beer, D., McKay, L. J., Tivey, M. K., Biddle, J. F., Hoer, D., Lloyd, K. G., Lever, M. A., Røy, H., Albert, D. B., Mendlovitz, H. P., et MacGregor, B. J. (2016). The Guaymas Basin hiking guide to hydrothermal mounds, chimneys, and microbial mats: Complex seafloor expressions of subsurface hydrothermal circulation. *Frontiers in Microbiology* **7**, 1-23.

- Teske, A., et Nelson, D. C. (2006). The Genera *Beggiatoa* and *Thioploca*. In « Journal of bacteriology ». p. 784-810
- Thamdrup, B. (2012). New Pathways and Processes in the Global Nitrogen Cycle. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **43**, 407-428.
- Thamdrup, B., Dalsgaard, T., Thamdrup, B., et Dalsgaard, T. (2002). Production of N₂ through Anaerobic Ammonium Oxidation Coupled to Nitrate Reduction in Marine Sediments. *Applied and Environmental Microbiology* **68**, 1312-1318.
- Tiedje, J. M. (1988). Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. *Environmental Microbiology of Anaerobes*, 179-244.
- Tobias, C. R., Anderson, I. C., Canuel, E. A., et Macko, S. A. (2001). Nitrogen cycling through a fringing marsh-aquifer ecotone. *Marine Ecology Progress Series* **210**, 25-39.
- Toet, S., Van Logtestijn, R. S. P., Kampf, R., Schreijer, M., et Verhoeven, J. T. A. (2005). The effect of hydraulic retention time on the removal of pollutants from sewage treatment plant effluent in a surface-flow wetland system. *Wetlands* **25**, 375-391.
- Tratnyek, P. G., et Macalady, D. L. (2000). Tratnyek, Paul G. et al " Oxidation-Reduction Reactions in the Aquatic Environment ". In « Estimation Methods for Chemicals Environmental Health Sciences ». (Éd R. S. Boethling.)
- Twilley, R. R., Chen, R., et Hargis, T. (1992). Carbon sinks in mangroves and their implications to carbon budget of tropical coastal ecosystems. *Water, Air and Soil Pollution* **64**, 265-288.
- Twilley, R. R., et Rivera-Monroy, V. H. (2009). « Ecogeomorphic Models of Nutrient Biogeochemistry for Mangrove Wetlands » First edit. (Elsevier.)
- Valiela, I., Bowen, J. L., et York, J. K. (2006). Mangrove Forests: One of the World's Threatened Major Tropical Environments. *BioScience* **51**, 807.
- Valiela, I., Juman, R., Asmath, H., Hanacek, D., Lloret, J., Elmstrom, E., Chenoweth, K., et Jack Brookshire, E. N. (2020). Water quality, nutrients, and stable isotopic signatures of particulates and vegetation in a mangrove ecosystem exposed to past anthropogenic perturbations. *Regional Studies in Marine Science* **35**, 101208.

- Valiente, N., Jirsa, F., Hein, T., Wanek, W., Bonin, P., et Gómez-Alday, J. J. (2020). Oxygen and light determine the pathways of nitrate reduction in a highly saline lake. *Biogeosciences Discussions*, 1-32.
- Vaslet, A., Chevy, L., Alloncle, N., et Brugneaux, S. (2013). Analyse régionale Guadeloupe. Synthèse des connaissances.
- Vincent, S. G. T., Reshmi, R. R., Hassan, S. J., Nair, K. D., et Varma, A. (2017). Predominant terminal electron accepting processes during organic matter degradation: Spatio-temporal changes in Ashtamudi estuary, Kerala, India. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **198**, 508-517.
- Vo, Q. T., Kuenzer, C., Vo, Q. M., Moder, F., et Oppelt, N. (2012). Review of valuation methods for mangrove ecosystem services. *Ecological Indicators* **23**, 431-446.
- Vymazal, J. (2008). Constructed Wetlands for Waste-Water Treatment : A review. In « The 12 th World Lake Conference ». (Éd M. Sengupta et R. Dalwani.) p. 965-980. (Taal.)
- Vymazal, J. (2011). Constructed wetlands for wastewater treatment: Five decades of experience. *Environmental Science and Technology* **45**, 61-69.
- Vymazal, J. (2007). Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the Total Environment* **380**, 48-65.
- Wang, F., Cheng, P., Chen, N., et Kuo, Y. M. (2020). Tidal driven nutrient exchange between mangroves and estuary reveals a dynamic source-sink pattern. *Chemosphere* **270**, 128665.
- Wang, H., Gilbert, J. A., Zhu, Y., et Yang, X. (2018). Salinity is a key factor driving the nitrogen cycling in the mangrove sediment. *Science of the Total Environment* **631-632**, 1342-1349.
- Weeks, M. E. (1934). Daniel rutherford and the discovery of nitrogen. *Journal of Chemical Education* **11**, 101.
- Wickramasinghe, S., Borin, M., Kotagama, S. W., Cochard, R., Anceno, A. J., et Shipin, O. V. (2009). Multi-functional pollution mitigation in a rehabilitated mangrove conservation area. *Ecological Engineering* **35**, 898-907.
- Willems, H. P. L., Rotelli, M. D., Berry, D. F., Smith, E. P., Reneau, R. B., et Mostaghimi, S. (1997). Nitrate removal in riparian wetland soils: Effects of flow rate, temperature, nitrate

- concentration and soil depth. *Water Research* **31**, 841-849.
- Wilson, R. (2017). Impacts of Climate Change on Mangrove Ecosystems in the Coastal and Marine Environments of Caribbean Small Island Developing States (SIDS).
- Winkel, M., Beer, D. De, Lavik, G., Peplies, J., et Mußmann, M. (2014). Close association of active nitrifiers with Beggiatoa mats covering deep-sea hydrothermal sediments. **16**, 1612-1626.
- Woltemade, C. J., et Woodward, J. (2008). Nitrate removal in a restored spring-fed wetland, Pennsylvania, USA. *Journal of the American Water Resources Association* **44**, 222-234.
- Wong, Y. S., Tam, N. F. Y., et Lan, C. Y. (1997). Mangrove wetlands as wastewater treatment facility: A field trial. *Hydrobiologia* **352**, 49-59.
- Woodroffe, C. (1992). Mangrove sediments and geomorphology. In « Tropical Mangrove Ecosystem ». (Éd A.I. Robertson et D.M. Alongi.) p. 7-41. (Washington DC., USA.)
- Wu, Y., Chung, A., Tam, N. F. Y., Pi, N., et Wong, M. H. (2008). Constructed mangrove wetland as secondary treatment system for municipal wastewater. *Ecological Engineering* **34**, 137-146.
- Xiao, K., Wu, J., Li, H., Hong, Y., Wilson, A. M., Jiao, J. J., et Shananan, M. (2018). Nitrogen fate in a subtropical mangrove swamp: Potential association with seawater-groundwater exchange. *Science of the Total Environment* **635**, 586-597.
- Xiong, Y., Liao, B., Proffitt, E., Guan, W., Sun, Y., Wang, F., et Liu, X. (2018). Soil carbon storage in mangroves is primarily controlled by soil properties: A study at Dongzhai Bay, China. *Science of the Total Environment* **619-620**, 1226-1235.
- Yang, Q., Tam, N. F. Y., Wong, Y. S., Luan, T. G., Su, W. S., Lan, C. Y., Shin, P. K. S., et Cheung, S. G. (2008). Potential use of mangroves as constructed wetland for municipal sewage treatment in Futian, Shenzhen, China. *Marine Pollution Bulletin* **57**, 735-743.
- Yang, S., Wu, S., Cai, Y., Zhou, W., Zhu, T., Wang, Y., et Huang, P. (2015). The synergetic and competitive mechanism and its dominant affecting factors of dissimilatory nitrate reduction processes: a review. *Acta Ecologica Sinica* **36**.
- Yang, X., Huang, S., Wu, Q., et Zhang, R. (2012). Nitrate reduction coupled with microbial oxidation of sulfide in river sediment. *Journal of Soils and Sediments* **12**, 1435-1444.

- Ye, Y., Tam, N. F. Y., et Wong, Y. S. (2001). Livestock wastewater treatment by a mangrove pot-cultivation system and the effect of salinity on the nutrient removal efficiency. *Marine Pollution Bulletin* **42**, 512-520.
- Yücel, M., Sommer, S., Dale, A. W., et Pfannkuche, O. (2017). Microbial sulfide filter along a benthic redox gradient in the Eastern Gotland Basin, Baltic Sea. *Frontiers in Microbiology* **8**, 1-16.
- Zarama-Alvarado, S. (2018). The Challenges of Dealing with Nitrogen Pollutants in Groundwater. *Revista científica* **3**, 230-242.
- Zhang, M., Dai, P., Lin, X., Lin, L., Hetharua, B., Zhang, Y., et Tian, Y. (2020). Nitrogen loss by anaerobic ammonium oxidation in a mangrove wetland of the Zhangjiang Estuary, China. *Science of the Total Environment* **698**, 134291.
- Zhao, Y., Bu, C., Yang, H., Qiao, Z., Ding, S., et Ni, S. Q. (2020). Survey of dissimilatory nitrate reduction to ammonium microbial community at national wetland of Shanghai, China. *Chemosphere* **250**, 126195.