

## Impact de différents régimes hydriques sur la capacité de dénitrification et de respiration d'un sédiment d'un étang de la Camargue

Cherifa Alliouch-Kerboua<sup>1</sup>, Robert Lensi<sup>2</sup>, Nathalie Fromin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>) Département de Biochimie, Faculté des Sciences,  
Université Badji Mokhtar, Annaba23000, Algérie.

<sup>2</sup>) Centre d'Écologie Fonctionnelle et Évolutive,  
CNRS Montpellier, France.

Accepté le 14/11/2007

تعتبر المناطق الرطبة أنظمة بيئية جد غنية، نظرا للتنوع البيولوجي الذي تحتويه، ولكنها أيضا أنظمة بيئية مهددة لأنها تعاني من الضغوط المناخية و الديمغرافية الحالية. اولنا في دراستنا أن نبحث عن تأثير عدة أنظمة ري على العمليتين البكتيريتين التنفس و *dénitrification* (المسؤولتان عن طرح  $\text{CO}_2$  و  $\text{N}_2\text{O}$ ) في مجموعتين من الرواسب اللتان استخرجتا من مستنقع في منطقة la Camargue بجنوب شرق فرنسا، واحدة استخرجت من منطقة فيها تناوب بين فترات يكون فيها المستنقع مغمورا بالمياه و أخرى يكون فيها جاف المنطقة (A). أما الأخرى فقد استخرجت من منطقة مغمورة بالمياه طوال السنة المنطقة (B) أخضعنا هاتين المجموعتين من الرواسب إلى 3 أنظمة ري مختلفة: - في الأول حرسنا على أن يبقى الراسب مغمورا بالماء طيلة التجربة (شهرين) - في الثاني حرسنا على التجفيف التدريجي ثم تركنا الراسب يجف تماما حتى نهاية التجربة - في الثالث تعاقبت ثلاث فترات على الراسب: التجفيف - إعادة الترطيب - التجفيف. إن إمكانيات عمليتي *dénitrification* و التنفس تأثرت بأنظمة الري الثلاث المطبقة خلال التجربة و لكن الراسبين A و B تجاوبا مع الأنظمة بشكل مختلف، مقترحة بأن تاريخ الراسب يؤثر في تجاوبه مع stress كالتجفيف الذي مرسناه.

الكلمات المفتاحية: المناطق الرطبة مليتين بكتيريًا أنظمة ري راسب

### Résumé

Les zones humides sont des écosystèmes très riches, vu la biodiversité importante qu'elles hébergent. Elles sont aussi considérées comme des écosystèmes très vulnérables, car particulièrement affectés par les fortes pressions climatiques et démographiques actuelles. Dans notre étude, nous avons cherché à évaluer dans quelle mesure l'application de différentes conditions hydriques peut affecter les fonctions microbiennes de respiration et de dénitrification (responsables respectivement d'émission de  $\text{CO}_2$  et de  $\text{N}_2\text{O}$ ) dans deux lots de sédiment provenant d'un même étang de Camargue qui se trouve au sud-est de la France, l'un prélevé dans une zone qui connaît des alternances inondation /exondation (A) et l'autre dans une zone qui est toute l'année sous eau (B). Ces deux lots de sédiment ont été soumis à trois traitements différents : maintenus saturés en eau durant toute la durée de l'expérience (2 mois), soumis à une dessiccation progressive puis laissés secs jusqu'à la fin de l'expérience, ou encore soumis à une alternance dessiccation – réhumectation – dessiccation. Les potentiels de dénitrification et de respiration ont été affectés par les conditions hydriques appliquées lors de l'expérience mais les sédiments A et B ont répondu différemment, suggérant que l'histoire du sédiment conditionne sa résistance à un stress tel que l'assèchement.

**Mots clés :** Zones humides; fonctions microbiennes; conditions hydriques; sédiment; France

### Abstract

Wetlands are very rich ecosystems, according to the important biodiversity that they contain. They are also considered as very vulnerable ecosystems, because particularly affected by the strong present climatic changes and demographic pressures. In our study, we tried to assess in what extent the application of different water conditions affect the microbial functions of aerobic respiration and denitrification (respectively responsible for the emission of greenhouse effect gases:  $\text{CO}_2$  and  $\text{N}_2\text{O}$ ). Two pools of sediments coming from the same pond in Camargue which is in the south-east of France were used, one sampled in a zone that knows frequent flooding / exondation alternations (A), and the other sampled in a zone that is under water during the whole year (B). These two pools of sediment were submitted to three different treatments:

maintained water-saturated during the whole length of the experiment (2 months), submitted to a progressive desiccation until the end of the experiment, or submitted to a desiccation- rewetting-desiccation alternation. The potentials of denitrification and respiration were affected by the water conditions applied during the experiment but sediments A and B responded differently, suggesting that the history of the sediment conditions its answer to the desiccation.

**Key words:** Wetlands; microbial functions; water conditions; sediment; France

## 1. INTRODUCTION

L'impact des activités humaines sur les écosystèmes devient de plus en plus important. La pression démographique, donc les besoins croissants en ressources [1] génèrent des modifications du climat et des changements de l'usage des territoires. Les conséquences de ces bouleversements risquent de mettre en péril les services rendus par les écosystèmes [2], [3].

Les zones humides sont considérées comme des écosystèmes très riches sur le plan environnemental vu l'importante biodiversité qu'elles hébergent [4]. Elles sont aussi très vulnérables, car particulièrement affectées par les fortes pressions climatiques et démographiques actuelles [5]. Le réchauffement climatique génère des modifications des régimes de précipitations pouvant entraîner des variations du niveau des mers et des océans. Ces variations seront susceptibles d'affecter fortement les zones humides, et, parmi elles, les zones deltaïques [6], telles que la Camargue qui se trouve dans un contexte fortement anthropisé et où de nombreux enjeux antagonistes s'affrontent : Conservation, pêche, chasse, rizières, salins, cultures sèches [7]. Outre les modifications des régimes hydrologiques, les zones humides sont également très vulnérables par rapport aux changements d'utilisation des terres qui résultent de l'accroissement de la pression démographique. Dans notre étude nous avons effectué des expériences *in vitro* au cours desquelles l'évolution des processus potentiels est suivie en fonction de modifications environnementales simulées ; c'est-à-dire une approche simplifiée impliquant l'utilisation de

microcosmes au laboratoire. Nous avons pris en compte deux processus responsables d'émission de gaz à effet de serre ; la dénitrification et la respiration responsables respectivement d'émission de CO<sub>2</sub> et de N<sub>2</sub>O, qui sont deux gaz à effet de serre [8], [9] principalement émis dans l'atmosphère (Les deux autres processus sont la nitrification et la méthanogénèse).

Notre étude a eu pour objectif d'apporter des éléments de réponse aux questions suivantes :

- 1- **Avec quelle cinétique l'assèchement d'un sédiment d'étang affecte-t-il les potentiels de dénitrification et de respiration ? Quelle est sa capacité à revenir à un état initial (résilience) ?**
- 2- **Cette réponse (fonctions) dépend-elle de l'«histoire» du sédiment, (zone régulièrement asséchée versus zone inondée en permanence) ?**

## 2. MATERIELS ET METHODES

### 2.1 Site d'étude

Les prélèvements ont été réalisés sur l'étang de la Baisse Salée en Camargue au sud-est de la France. Un lot de sédiment A a été prélevé au nord (sous 40 cm d'eau), dans une zone qui connaît des alternances inondation (hiver)/exondation (été). Le deuxième lot de sédiment B est prélevé plus au sud (sous 80 cm d'eau), d'une zone qui est en permanence sous eau. Sur chaque site A et B, 5 lots de sédiments frais ont été prélevés sur 10 cm de profondeur sur une surface d'environ 30m<sup>2</sup>.

## 2.2 Caractéristiques du sédiment

Le tableau 1 représente les caractéristiques des sédiments A et B. Le pH est mesuré sur un mélange sédiment – eau 1 : 2,5. La teneur en nitrate est mesurée par colorimétrie (voir : 2.4.2. Détermination de la teneur en nitrate). Les limites de détection de  $\text{NH}_4^+$  sont :

### Sédiment A :

Limite inférieure: 0,00590 mg de  $\text{NH}_4^+$   $\text{g}^{-1}$  de sédiment sec ;

Limite supérieure: 0,05588 mg de  $\text{NH}_4^+$   $\text{g}^{-1}$  de sédiment sec.

### Sédiment B :

Limite inférieure: 0,00584 mg de  $\text{NH}_4^+$   $\text{g}^{-1}$  de sédiment sec ;

Limite supérieure: 0,05085 mg de  $\text{NH}_4^+$   $\text{g}^{-1}$  de sédiment sec.

Les limites de détection de  $\text{NO}_3^-$  sont :

### Sédiment A :

Limite inférieure: 0,00021 mg de  $\text{NO}_3^-$   $\text{g}^{-1}$  de sédiment sec ;

Limite supérieure: 0,32076 mg de  $\text{NO}_3^-$   $\text{g}^{-1}$  de sédiment sec

### Sédiment B :

Limite inférieure: 0,00025 mg de  $\text{NO}_3^-$   $\text{g}^{-1}$  de sédiment sec ;

Limite supérieure : 0,027308 mg de  $\text{NO}_3^-$   $\text{g}^{-1}$  de sédiment sec.

## 2.3 Conditions d'incubation des échantillons

Les 2 lots de sédiment sont répartis dans des microcosmes en plastique circulaire (diamètre : 10 cm, hauteur : 5 cm, 350 g de sédiment frais par microcosme). Munis dans leurs parties inférieures d'une toile d'une maille de 1 mm. Chacun est placé dans une coupelle en plastique au fond de laquelle est placé un disque de feutrine (humidité). 100 ml d'eau distillée leur sont ajoutés. Puis ils sont incubés dans une chambre obscure et à une température de 25° C. Pendant les 4 premiers jours, tous les échantillons sont soumis au même traitement : apport d'eau permettant le maintien d'une pellicule d'environ 2 cm au dessus du sédiment. A partir du cinquième jour trois traitements sont appliqués:

- 1) 30 microcosmes du sédiment A et 30 microcosmes du sédiment B sont maintenus sous eau pendant toute l'expérience : traitements Ah et Bh

**Tableau 1.** Caractéristiques des sédiments A et B

Caractéristiques	Sédiment A	Sédiment B
<b>Texture</b> (n = 5)	< 50 $\mu\text{m}$ : 89,9 % 200-50 $\mu\text{m}$ : 7,2 % 500-200 $\mu\text{m}$ : 1,9 % > 500 $\mu\text{m}$ : 0,9 %	< 50 $\mu\text{m}$ : 81,4 % 200-50 $\mu\text{m}$ : 12,1% 500-200 $\mu\text{m}$ : 4,5 % > 500 $\mu\text{m}$ : 2,0 %
<b>Humidité</b> (n = 9)	0,84 g d' $\text{H}_2\text{O}$ $\text{g}^{-1}$ de sédiment sec	1,20 g d' $\text{H}_2\text{O}$ $\text{g}^{-1}$ de sédiment sec
<b>Quantité de débris organiques</b> (n = 3)	0,0027 g de débris organique $\text{g}^{-1}$ de sédiment sec	0,0158 g de débris organique $\text{g}^{-1}$ de sédiment sec
<b>pH</b> (n = 3)	7,52	7,62
<b>Teneur en <math>\text{NH}_4^+</math></b> (n = 9)	0,0326 mg de $\text{NH}_4^+$ $\text{g}^{-1}$ de sédiment sec	0,0604 mg de $\text{NH}_4^+$ $\text{g}^{-1}$ de sédiment sec
<b>Teneur en <math>\text{NO}_3^-</math></b> (n = 9)	0,0033 mg de $\text{NO}_3^-$ $\text{g}^{-1}$ de sédiment sec	0,0026 mg de $\text{NO}_3^-$ $\text{g}^{-1}$ de sédiment sec
<b>Teneur en Carbone</b> (n = 9)	7,74 %	8,81 %
<b>Teneur en Azote</b> (n = 9)	0,47 %	0,53 %

**n** : nombre d'échantillons

2) 30 microcosmes du sédiment A et 30 microcosmes du sédiment B ne sont pas réhumectés pendant 1 mois puis réhumectés 1 fois à  $t = 31$  jours : traitements Aa et Ba.

3) 30 microcosmes du sédiment A et 30 microcosmes du sédiment B ne sont jamais réhumectés jusqu'à la fin de l'expérience : traitements As et Bs.

30 ml d'eau distillée ont été ajoutés au sédiment pour le traitement « h » et pour la réhumectation du traitement « a » à  $t = 31$  jours de manière à maintenir le sédiment dans un état de saturation. Aux temps  $T = 0, 4, 11, 19, 25, 32, 39, 46$  jours et 53 jours, trois microcosmes de chaque traitement et de chaque sédiment sont pris au hasard et amenés au laboratoire pour les analyses. Avant de procéder aux analyses le contenu des microcosmes a été homogénéisé.

## 2.4 Analyses réalisées

### 2.4.1 Détermination de la teneur en eau du sédiment

Pour chaque microcosme, à chaque temps de prélèvement, 10 g de sédiment frais sont pesés dans une coupelle en aluminium, séchés à  $105^{\circ}\text{C}$  à l'étuve, puis pesés de nouveau pour déduire le taux d'humidité.

### 2.4.2 Détermination de la teneur en nitrate

#### 2.4.2.1 Préparation des échantillons

Les échantillons de sédiments sont conservés à  $-18^{\circ}\text{C}$  pendant 3 mois. Ce sont les échantillons de la première et de la dernière série qui sont utilisés. 5 g de sédiment de chaque microcosme sont placés dans des flacons auquel sont ajoutés 20 ml d'une solution de Chlorure de Potassium (KCl) 1 M et d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 0,1 N. Les flacons sont refermés et placés dans un agitateur mécanique pendant 20 minutes. Le mélange est filtré. Les filtrats sont

recupérés dans des tubes qui sont refermés. Les filtrats de sédiment sont conservés à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### 2.4.2.2 Mesure du taux de nitrate

Les nitrates présents dans les filtrats de sédiment sont réduits en nitrite par une colonne réductrice au Cadmium-Cuivre qui fait partie d'un colorimètre en flux continu (Chaine Evolution II, Alliance Instrument., Frépillon, France). Ils sont mis en contact avec un réactif coloré préparé comme suit : 20 g de Sulfanilamide ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ ) est ajouté à une solution de 1,5 litre d'eau distillée et 200 ml d'acide phosphorique concentré ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), ce mélange est dissout avec un agitateur chauffant. 1 g de N-1 Naphtyl éthylène-diamine dihydrochlorure ( $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2, 2\text{HCl}$ ) est ajouté et dissout. 2 litres d'eau distillée sont ajoutées. A la fin, 1 ml d'un agent mouillant le polyéthylène glycol dodecyl éther réduit (BRIJ 35) est ajouté. Les Nitrites réagissent avec  $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$  pour donner un composé diazo qui forme avec  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2, 2\text{HCl}$  un complexe coloré en rose violacé qui est mesuré par absorbance à 520 nm. La solution étalon est préparée en diluant au  $1/10^{\text{ème}}$  une solution mère à  $1\text{mg ml}^{-1}$ . Une gamme étalon est préparée à chaque dosage, à partir de  $\text{KNO}_3$ .

### 2.4.3 Analyse des fonctions microbiennes

#### 2.4.3.1 Dénitrification potentielle

Pour chaque microcosme, 20 g de sédiment frais sont placés dans un flacon à plasma fermé de 150 ml. L'atmosphère interne des flacons à plasma est remplacée par de l'hélium (conditions anaérobies). L'atmosphère des flacons est remise à pression atmosphérique en fin de programme. 15 ml de l'atmosphère des flacons sont prélevés à la seringue et remplacés par 15 ml d'acétylène. L'acétylène inhibe l'activité de la  $\text{N}_2\text{O}$  réductase responsable de la dernière étape de dénitrification [10]. 10, 15 ou 20 ml

(selon le niveau d'assèchement des échantillons) de solution contenant du glucose, de l'acide glutamique et du nitrate de potassium sont ajoutés au sédiment. Plusieurs solutions sont donc préparées de façon à apporter systématiquement dans tous les flacons les mêmes quantités de C des 2 composés carbonés (1 mg C-glucose / g sédiment, 1 mg C-acide glutamique / g sédiment et 0,2 mg N - NO<sub>3</sub><sup>-</sup> par gramme de sédiment). Donneurs et accepteurs d'électrons sont donc apportés en excès afin que le fonctionnement enzymatique des microorganismes du sol ne soit pas limité par le substrat (cinétique d'ordre 0). Les flacons sont agités quelques secondes. La mesure de la concentration en N<sub>2</sub>O dans l'atmosphère du flacon est faite après 2 h et 6 h d'incubation à 25°C à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse à détection par capture d'électron (CP-3800, Varian Inc., Palo Alto, USA). En fin d'expérience les flacons sont ouverts et séchés à l'étuve à 105 ° C, puis pesés pour déduire le poids sec. La dénitrification potentielle est exprimée en µg N-N<sub>2</sub>O /g de sédiment sec/h qui est obtenu de la manière suivante :

$$\mu\text{g N} = \frac{\text{vpm} (\mu\text{l l}^{-1}) \cdot 14 \text{ g/mole} \cdot \text{Volume du flacon (l)}}{22,41 \text{ mole}^{-1} \cdot \text{Poids sec du sédiment (g)} \cdot \text{temps (h)}} \quad (1)$$

#### 2.4.3.2 Respiration potentielle

20 g de sédiment frais sont placés dans un flacon à plasma de 150 ml. Dans chaque flacon sont mis 5 ml, 12,5 ml ou 15 ml, de façon à atteindre une teneur en eau équivalente à la capacité au champ pour tous les échantillons, quel que soit le niveau d'assèchement initial des échantillons. Comme pour la dénitrification, plusieurs solutions sont donc préparées de façon à apporter systématiquement dans tous les flacons la même quantité de C-glucose [11] par gramme de sédiment, soit 1 mg. Comme pour la dénitrification cette quantité est considérée comme non limitante.

Les échantillons sont incubés à une température de 25° C. La mesure de la concentration en CO<sub>2</sub> dans l'atmosphère des flacons se fait après 2 h et 6 h d'incubation à 25°C à l'aide d'un microcatharomètre (CP-4900, Varian Inc., Palo Alto, USA). Les flacons sont ouverts et séchés à l'étuve à 105 ° C (ou 60 °C), puis pesés pour déduire le poids sec exact. La respiration potentielle est mesurée en µg C-CO<sub>2</sub>/g de sédiment sec/h qui est obtenu de la manière suivante :

$$\mu\text{g C} = \frac{\text{vpm} (\mu\text{l l}^{-1}) \cdot 12 \text{ g/mole} \cdot \text{Volume du flacon (l)}}{22,41 \text{ mole}^{-1} \cdot \text{Poids sec du sédiment (g)} \cdot \text{temps (h)}} \quad (2)$$

### 2.5 Tests statistiques

Les comparaisons statistiques sont faites à l'aide du test de Student sur le logiciel excel.

## 3. RÉSULTATS

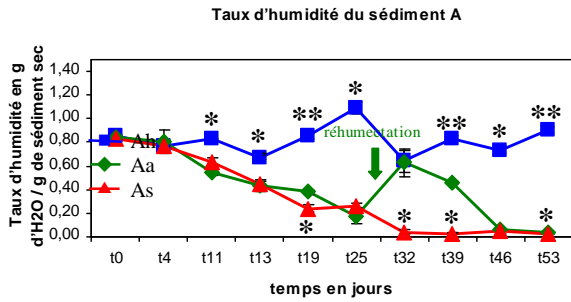
### 3.1 Evolution des variables physico-chimiques du sédiment

#### 3.1.1 Taux d'humidité

La figure 1 a montré qu'au moment du prélèvement le taux d'humidité du sédiment B est supérieur à celui du sédiment A. Dans les microcosmes qui sont maintenus en permanence sous eau le taux d'humidité a montré des fluctuations mais s'est maintenu approximativement à la valeur initiale. Dans les microcosmes As et Bs le taux d'humidité a diminué progressivement pour arriver à une valeur nulle à T = 32 jours pour As (fig. 1 a) et à T = 25 jours pour Bs (fig. 1 b). L'évolution de la teneur en eau dans les microcosmes Aa et Ba est très similaire à celle des microcosmes As et Bs jusqu'à l'apport d'eau au T = 31 jours qui entraîne une remontée des valeurs du taux d'humidité dans les microcosmes Aa et Ba. L'évolution du taux d'humidité en fonction des 3 traitements hydriques a montré que le taux d'humidité dans les microcosmes Aa, As et Ba, Bs a commencé à diminuer significativement

( $p < 0,05$ ) à partir du T = 11 jours. Cette diminution est plus accentuée pour les microcosmes Aa et As, car le sédiment A a répondu plus fortement au séchage (fig. 1 a).

a.



b.

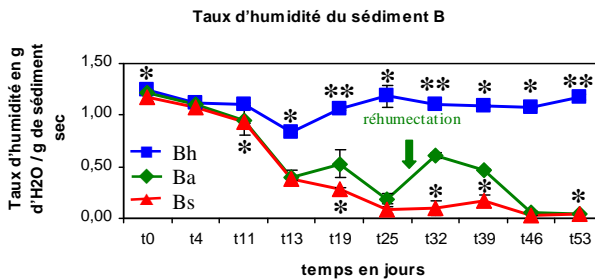


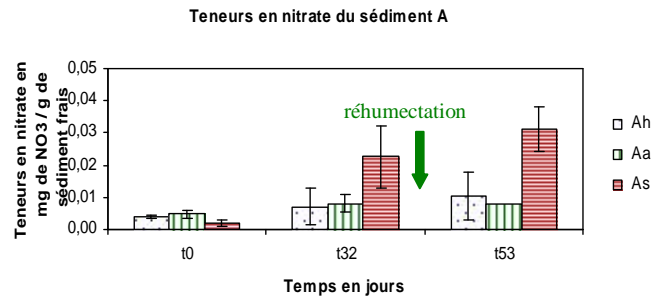
Figure 1. Taux d'humidité dans les sédiments A et B; (\* $p < 0,05$ : entre 2 points; \*\* $p < 0,05$ : entre 3 points)

### 3.1.2 Teneurs en nitrate dans le sédiment

Au début de l'incubation les échantillons ont présenté des valeurs similaires en nitrate dans les 2 sédiments. L'évolution du nitrate est ensuite différente. Le point le plus marquant de cette différence a été qu'une accumulation progressive du nitrate est observée dans les microcosmes As (fig. 2 a), alors que cette évolution n'existe pas dans le sédiment B (fig. 2 b). En revanche dans le sédiment B une accumulation du nitrate est observée à T = 53 jours pour le

microcosme Ba. La teneur en nitrate dans le microcosme Ba a augmenté significativement ( $p < 0,05$ ) après réhumectation au T = 31 jours (fig. 2 a).

a.



b.

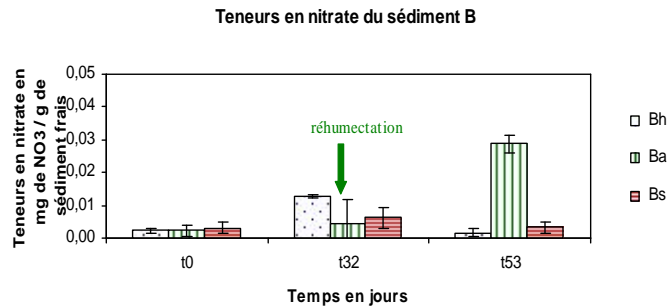
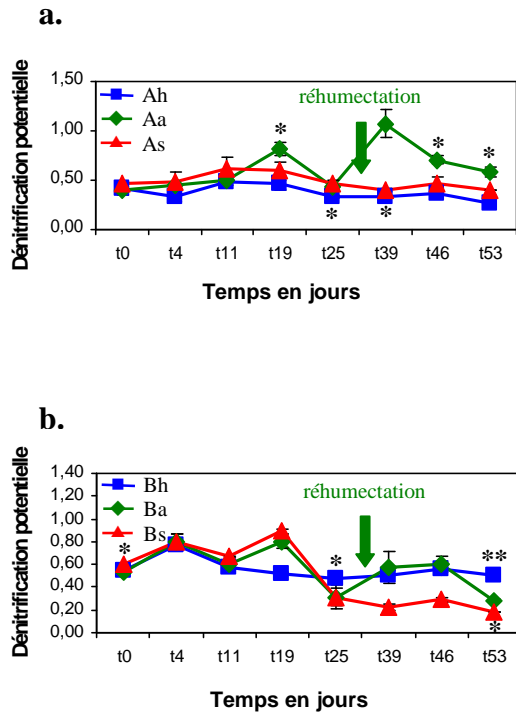


Figure 2. Teneurs en nitrate dans les sédiments A et B

### 3.2 Evolution des variables biologiques du sédiment

#### 3.2.1 Dénitrification potentielle

L'activité de dénitrification potentielle initiale est similaire dans tous les microcosmes. Cette activité a varié au cours de l'expérience (fig. 3). L'activité de dénitrification potentielle des microcosmes Ah, As et Bh a sensiblement varié. La réhumectation des microcosmes Aa et Ba au T = 31 jours a entraîné une augmentation de l'activité de dénitrification potentielle qui est plus importante dans les microcosmes Aa. Cette activité de dénitrification potentielle a diminué après que les microcosmes Aa et Ba soient de nouveau asséchés.

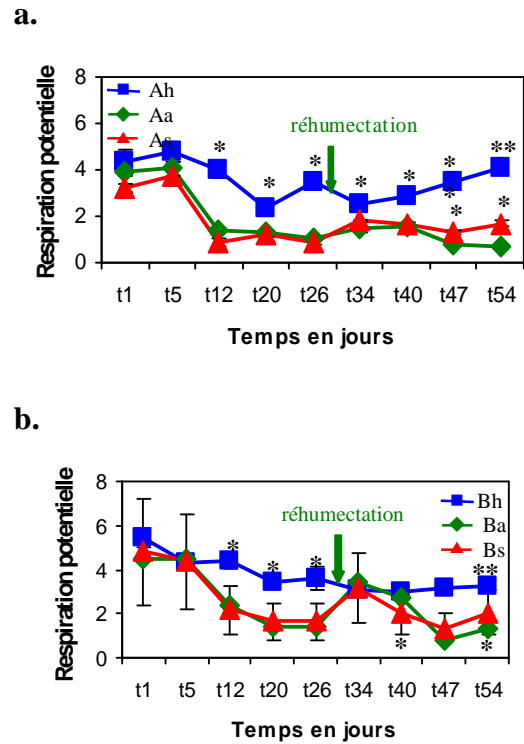


**Figure 3.** Evolution de l'activité de dénitrification potentielle : a) sédiment A et b) sédiment B; (\* $p \leq 0,05$ : entre 2 points; \*\* $p \leq 0,05$ : entre 3 points)

### 3.2.2 La respiration potentielle

Les analyses de respiration potentielle ont montré que l'assèchement du sédiment affecte régulièrement cette fonction. Les microcosmes Ah et Bh ont une activité de respiration potentielle élevée tout au long de l'expérience. L'activité de respiration potentielle diminue très fortement dans les microcosmes Aa et As. La réhumectation des microcosmes Aa et Ba au T = 31 jours entraîne une augmentation de l'activité de respiration potentielle. Cet effet de la réhumectation est plus visible dans les microcosmes Ba qui ont une activité de respiration potentielle plus forte au T = 31 jours. Cette activité diminue quand les microcosmes Aa et Ba sont de nouveau laissés sécher, la diminution est brutale

dans le microcosme Ba. L'activité de respiration potentielle a commencé à diminuer significativement au T = 13 jours dans les microcosmes Aa, As, Ba et Bs (fig. 4).



**Figure 4.** Evolution de l'activité de respiration potentielle : a) sédiment A et b) sédiment B; (\* $p \leq 0,05$ : entre 2 points; \*\* $p \leq 0,05$ : entre 3 points)

## 4. DISCUSSION

### 4.1 Evolution de la teneur en nitrates

Les teneurs en nitrate initiales étaient similaires entre les 2 sédiments (fig. 2). On a observé une augmentation progressive de la teneur en nitrate dans les microcosmes As. L'augmentation de N inorganique est une conséquence de la minéralisation de l'azote issu de la matière organique du sédiment [12]. La teneur en nitrate du sédiment A a augmenté malgré le temps d'incubation assez court. On peut en déduire que l'assèchement a permis une remise en fonction rapide de la communauté microbienne nitrifiante puisqu'il s'agit d'un sédiment habitué à l'alternance. Au contraire, pour le sédiment B qui n'est pas habitué à

l'alternance, on n'observe pas d'augmentation de la teneur en nitrate lors de l'assèchement (Bs), alors que ce traitement devrait être favorable à la communauté nitrifiante. Une explication possible serait que les conditions d'incubation (temps, vitesse de dessiccation) n'ont pas permis une activation de cette communauté. Par contre, le sédiment B qui a été asséché puis réhumecté (Ba) a présenté une augmentation de la teneur en nitrate après la deuxième période d'assèchement (t = 53 jours). Dans ce cas, on peut supposer que l'alternance due au traitement a pu rendre fonctionnelle la communauté nitrifiante, permettant l'accumulation de nitrate.

#### **4.2 Evolution comparée de la dénitrification potentielle et de la teneur en nitrate des sédiments (fig. 2 et 3)**

Le sédiment A présente un potentiel de dénitrification stable. On s'attendait à ce que l'assèchement du sédiment entraîne une diminution du potentiel de dénitrification par suite de la diminution de la teneur en eau. Malgré l'augmentation de la teneur en nitrate de As au cours de l'incubation, on n'observe pas d'augmentation du potentiel de dénitrification, probablement à cause des conditions défavorables à ce processus. Le maintien du potentiel de dénitrification dans As peut s'expliquer par le fait que ce sédiment (et la communauté microbienne dénitrifiante qui y réside) est habitué à l'alternance. Ce n'est pas le cas pour le sédiment B pour lequel un assèchement expérimental entraîne des variations significatives du potentiel de dénitrification (Bs): lors de la phase initiale de l'assèchement, le potentiel de dénitrification augmente puis, lorsque la teneur en eau du sédiment devient très faible, le potentiel de dénitrification chute. Ce sédiment B n'est pas habitué à des phases de dessiccation: la communauté dénitrifiante qui y réside supporte donc

mal cette dessiccation. Une dessiccation complète du sédiment peut provoquer la mort des bactéries, une diminution de l'activité microbienne et l'arrêt de tous les processus microbiens comme la dénitrification potentielle [13].

Dans le cas d'une alternance expérimentale, la réhumectation se traduit:

- dans le sédiment A, par une augmentation significative du potentiel de dénitrification probablement suite à la dessiccation qui provoque une forte minéralisation de la matière organique.
- dans le sédiment B: par une augmentation du potentiel de dénitrification qui atteint des valeurs comparables aux valeurs initiales et aux valeurs obtenues pour le sédiment maintenu sous eau (Bh). Ceci démontre que lors de la réhumectation, la communauté microbienne a récupéré sa fonctionnalité (capacité de dénitrification): on peut alors parler de résilience de la fonction après le stress de l'assèchement et le retour à des conditions « normales ».

Nos résultats montrent que le potentiel de dénitrification dépend à la fois des conditions hydriques et de la présence de nitrates, qui dépend elle-même des processus de minéralisation et de nitrification. Cette constatation est en accord avec des résultats reportés dans la littérature qui montrent que nitrate, oxygène et teneur en eau sont les facteurs les plus directement impliqués dans l'induction de la synthèse des réductases de la dénitrification [14].

#### **4.3 Evolution de la respiration potentielle (fig. 4)**

Les sédiments maintenus sous eau (Ah et Bh) ont présenté une activité de respiration potentielle relativement stable: la stabilité de cette fonction est probablement due à la stabilité des conditions d'incubation puisque ces sédiments ont été prélevés sous eau et



maintenus en permanence sous eau. En parallèle on observe que la diversité métabolique reste relativement élevée dans les microcosmes Ah et Bh par rapport à celle des microcosmes soumis à l'assèchement (As et Bs) en fin d'incubation. La disponibilité en eau affecte la physiologie microbienne globale [15] [16]. Dans nos expériences, l'activité de respiration potentielle a significativement diminué lors de la phase initiale d'assèchement pour les traitements a et s. On peut en déduire que l'assèchement affecte rapidement les capacités de respiration aérobie du sédiment dans les 2 zones. Au cours de notre expérience, dès le  $t = 11$  jours, le taux d'humidité dans les sédiments soumis à dessiccation atteint des valeurs faibles (environ 60% pour A et 40% pour B), inférieures à la valeur de taux d'humidité optimale pour la respiration (80%). L'augmentation du potentiel de respiration à  $t = 34$  jours pour le traitement Bs est difficilement explicable et probablement due à un problème lors des expérimentations : on aurait attendu que les valeurs de respiration potentielle restent faibles pour ce traitement. Les potentiels de respiration aérobie des deux sédiments ont répondu différemment aux traitements hydriques. Alors que la réhumectation (traitement a) a généré une réponse différente (comparé au traitement s) en termes de la réponse des sédiments A et B et en termes de respiration potentielle. La réhumectation, pour le sédiment A (Aa) ne permet pas de récupérer un potentiel de respiration comparable au traitement Ah. Tout se passe comme si deux stress successifs appliqués aux sédiments aggravaient plus le potentiel de respiration qu'un seul assèchement. On observe en fin d'incubation à  $T = 53$  jours une augmentation de l'activité de respiration potentielle du sédiment A soumis au traitement d'alternance, par contre celle du sédiment B soumis au même traitement diminue. Ce résultat pourrait se traduire

par une capacité du sédiment B à la résilience au niveau de la fonction. A l'inverse, le sédiment A est manifestement peu capable de récupérer son niveau initial en ce qui concerne l'intensité de la fonction.

#### 4.4 Comparaison des deux sédiments

Bien que prélevés dans un même étang et à faible distance, les sédiments A et B présentaient des caractéristiques physico-chimiques différentes et ont répondu différemment aux traitements hydriques. Plusieurs explications peuvent être proposées :

- le sédiment B est plus riche en matière organique. Il est connu que les sédiments riches en matière organique récupèrent plus facilement leurs fonctions après perturbation que des sédiments pauvres en matière organique. Cette récupération fonctionnelle reflète une meilleure résistance des communautés microbiennes aux perturbations [15].
- Les conditions naturelles que connaît le sédiment A (passage de phases sous eau à faible température en hiver à des phases d'assèchement complet à des températures très élevées en été) constituent probablement un stress important pour les communautés. Ces communautés, très perturbées seraient plus vulnérables à un stress tel que l'assèchement expérimental.

## 5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Une analyse critique des 2 conclusions majeures de notre étude ainsi que les perspectives en découlant sont développées ci-dessous:

*(1) une variation des conditions hydriques peut affecter, à court terme, les fonctions potentielles de respiration et de dénitrification du sédiment étudié*

Respiration et dénitrification sont affectées de manière sensiblement différente par les modifications hydriques imposées : la dénitrification n'est pas affectée par un processus progressif d'assèchement alors que la respiration est très rapidement ralentie. A l'inverse, la séquence inondation / assèchement / réhumectation / assèchement stimule fortement la dénitrification mais n'affecte pas la respiration.

Les points suivants restent néanmoins inexplicables ou critiquables :

- les interprétations auraient probablement pu être renforcées si la durée de l'expérience avait été supérieure à 2 mois,
- l'augmentation de la respiration potentielle dans les échantillons en assèchement de la zone B est difficile à expliquer autrement que par un artefact expérimental,
- Un défaut d'homogénéisation initiale de chaque lot de sédiment peut être à l'origine d'un manque de répétabilité des analyses dans certains cas (respiration potentielle de la zone B).

Nous utilisons l'évolution des teneurs en nitrate comme élément d'explication de l'évolution de la capacité de dénitrification. Cependant, outre que les mesures auraient dû être plus fréquentes il faut noter que les teneurs en nitrate mesurées résultent de la différence entre la quantité de nitrate produit (nitrification) et la quantité de nitrate consommé (dénitrification). Il est donc difficile d'interpréter les résultats de dénitrification potentielle en fonction des teneurs en nitrate puisque le processus de dénitrification consomme des nitrates. Dans une étude plus longue, il aurait été intéressant de caractériser aussi les potentiels de nitrification.

(2) la réponse des fonctions et des communautés microbiennes à des modifications hydriques dépend du fait qu'il provienne d'une zone en permanence inondée ou d'une zone soumise à des alternances

Le potentiel de dénitrification des sédiments A et B a été affecté par les traitements appliqués. Pour un sédiment habitué à l'alternance (A), l'assèchement seul n'a pas suffi à altérer ce potentiel alors que pour un sédiment toujours sous eau, l'assèchement semble constituer un stress important puisque le potentiel est affecté. Ces résultats montrent que l'histoire du sédiment conditionne sa résistance à un stress d'assèchement.

#### **Remerciements**

*Je remercie vivement Monsieur Robert Lensi et Mademoiselle Nathalie Fromin pour leur expérience, qu'ils ont su me faire partager. Je remercie également toute l'équipe du CEFE (centre d'écologie fonctionnelle et évolutive) pour avoir rendu les conditions de travail particulièrement agréables et chaleureuses. Ces recherches ont été réalisées aux laboratoires du CEFE- CNRS de Montpellier en France.*

#### **Références**

- [1] O.E. Sala, F.S. Chapin, J.J. Armesto, E. Berlow, J. Bloomfield, R. Dirzo, E. Huber-Sanwald, L.F. Hueneke, R.B. Jackson, A. Kinzig, R. Leemans, D.M. Lodge, H.A. Mooney, M. Oesterheld, N.L. Poff, M.T. Sykes, B.H. Walker, M. Walker, D.H. Wall, *Global biodiversity scenarios for the year 2100*, Science (Washington), Vol. 5459, Issue 287, 2000, p. 1770-1774.
- [2] P. Rosimeiry et I. Rademacher, *A dynamic model of patterns of deforestation and their effect on the ability of the Brazilian Amazonian to provide ecosystem services*, Ecological Modelling, Vol. 143, 2001, p. 115-146.

- [3] E. Stokstad, *Ecology – Taking the pulse of earth's life-support systems*, Science, Vol. 308, Issue 5718, 2005, p.41-43.
- [4] N. Fromin, B. Montuelle, R. Dupont, C. Escape, R. Joffre, J. M. Ourcival, D. Serca, G. Pinay, R. Lensi, *Impact des régimes hydrologiques et des modes d'utilisation des terres sur les processus microbiens à l'origine d'émissions de gaz à effet de serre*, Rapport de recherche, 2005, p. 6.
- [5] M.M. Brinson et A.I Alvarez, *Temperate freshwater wetlands: types, status, and threats*, Environ, Conserv., Vol. 29, 2002, p.115-133.
- [6] G. Pfeifle, C. Mays et M. Poumadere, *Changement climatique, augmentation du niveau de la mer et (ré)-action des parties prenantes : Etude de cas à l'aide d'un scénario catastrophe en Camargue*, Rapport de recherche, 2004, p.8
- [7] Lensi Robert, Programme National / ACI – FNS : ECCO, ECOSPHERE CONTINENTAL : Processus et Modélisation, 2003.
- [8] J. T. Houghton, L. G. Meira Filho, B. A. Callandar, N. Harris, A. Kattenberg et K. Maskell, *Climate change: the science of climate change*, New York, Cambridge University Press, 1996.
- [9] K. Khalil, P. Renault, N. Guérin et B. Mary, *Modelling denitrification including the dynamics of denitrifiers and their progressive ability to reduce nitrous oxide: comparison with batch experiments*, European Journal of Soil Science, Vol. 56, Issue 4, 2005, p.491–504.
- [10] J. Luo, R.E. White, P. Roger Ball et R.W. Tillman, *Measuring denitrification activity in soils under pasture: Optimizing conditions for the short-term denitrification enzyme assay and effects of soil storage on denitrification activity*, Soil Biol. Biochem., Vol. 28, Issue 3, 1996, p. 409-417.
- [11] M.H. Beare, C.L. Neely, D.C. Coleman, et W.L. Hargrove, *Characterization of a substrate-induced respiration method for measuring fungal, bacterial and total microbial biomass on plant residues*, Agriculture, Ecosystems & Environment., Vol. 34, 1991, p. 65-73.
- [12] H. Olde Venterink, T.E. Davidsson, K. Kiehl et L. Leonardson, *Impact of drying and re-wetting on N, P and K dynamics in a wetland soil*, Plant and Soil., Vol. 243, 2002, p.119-130.
- [13] D.S. Baldwin et A.M. Mitchell, *The effects of drying and re-flooding on the sediment and soil nutrient dynamics of lowland river-floodplain systems: A synthesis*, Regulated Rivers: Research and Management, Vol. 16, 2000, p.457-467.
- [14] J.M. Tiedje, *Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium*, In Biology of anaerobic microorganisms, Zehnder A.J.B. (Ed.). Wiley J. & Sons., 1988, p.179-244.
- [15] M.S. Girvan, C.D. Campbell, K. Killham, J.I. Prosser et L.A. Glover, *Bacterial diversity promotes community stability and functional resilience after perturbation*, Environmental Microbiology, Vol. 7, Issue 3, 2005, p.301-313.
- [16] P. Holden, A., et N. Fierer, *Microbial processes in the vadose zone*, Vadose Zone Journal, Vol. 4, 2005, p. 1-21.