

# Emission de N<sub>2</sub>O dans la Basse Seine : Expérimentations, bilan et modélisation

Josette Garnier<sup>1</sup>, Aurélie Cébron<sup>1</sup>, Gilles Billen<sup>1</sup>, Gaëlle Tallec<sup>1,2</sup>  
*josette.garnier@ccr.jussieu.fr*

<sup>1</sup>UMR Sisyphe 7619, Fonctionnement des Hydrosystèmes, Université P. & M. Curie-CNRS, Boite 105, Tour 56,  
Etage 4, 4 place Jussieu, 75005 Paris, France

<sup>2</sup>SIAAP / DRD, 82, Av. Kléber, 92700 Colombes, France

## Sommaire

### Introduction

1. Evolution de la qualité de l'eau en aval de Paris
2. Nitrification, populations nitrifiantes et émissions de N<sub>2</sub>O à l'aval de Paris
  - 2.1. La nitrification
  - 2.2. Les populations nitrifiantes
  - 2.3. Emissions de N<sub>2</sub>O
3. Détermination des cinétiques de production de N<sub>2</sub>O et modélisation
  - 3.1. Facteurs de contrôle de la production de N<sub>2</sub>O
  - 3.2. Proportion des émissions de N<sub>2</sub>O par rapport à celles de N<sub>2</sub>
  - 3.3. Modélisation
4. Discussion et conclusions
5. Références

## Résumé

Les études réalisées sur la nitrification depuis presque 10 ans ont clairement montré que la nitrification des apports d'ammonium rejetés dans la Seine à l'aval de Paris étaient clairement à l'origine d'un déficit en oxygène dans l'estuaire et d'émission de N<sub>2</sub>O (gaz à effet de serre). Toutefois, cette longue série d'observations, montre une meilleure oxygénation des eaux de la basse Seine grâce à l'amélioration des traitements des effluents des stations d'épuration de la région parisienne. Afin de prévoir les effets à attendre des nouvelles mesures programmées pour 2007 en matière de traitement de l'azote, outre les observations des formes de l'azote dans la basse Seine, des études expérimentales ont été réalisées afin i) de déterminer les cinétiques qui régissent le processus de nitrification et notamment les émissions de N<sub>2</sub>O et ii) de les intégrer dans le modèle du fonctionnement écologique de la Seine.

Les populations bactériennes nitrifiantes ont été étudiées pour mieux comprendre leur origine et leur devenir. Alors que certaines bactéries sont clairement issues de la stations d'épuration et se maintiennent dans le milieu récepteur, d'autres apparaissent plus loin à l'aval des effluents, contribuant ainsi à accroître la diversité microbienne vers l'aval, dans le maximum d'activité nitrifiante de l'estuaire fluvial. Les deux populations de nitrifiantes étudiées, *Nitrobacter* et *Nitrospira*, montrent que la première est plus caractéristique de l'amont alors que la seconde proviendrait plus des effluents, les deux se maintenant toutefois dans des proportions similaires en basse Seine.

Expérimentalement, nous avons montré que le maximum de production de N<sub>2</sub>O se produit à des concentrations en oxygène comprises entre 1.1 et 1.25 mg.L<sup>-1</sup>, tant dans le milieu naturel que dans les boues activées de stations d'épuration. Les paramètres cinétiques (V<sub>max</sub>, K<sub>s</sub>) de la production de N<sub>2</sub>O dans un gradient d'ammonium et de nitrite ont été déterminés. Ces résultats ont été introduit dans le modèle du fonctionnement de la Seine.

Une représentation de la nitrification, incluant la nitrification dénitrifiante, à l'origine du N<sub>2</sub>O, ainsi que celle de la dénitrification benthique, productrice de N<sub>2</sub>O, conduisent à simuler de manière satisfaisante les variations longitudinales les formes de l'azote et de l'oxygène. Nous avons alors exploré les effets des traitements qui seront appliqués i) en 2007 (90 % de nitrification, 30 % de dénitrification), ii) en 2015 (90 % de nitrification, 70 % de dénitrification).

## Introduction

A l'aval de l'agglomération parisienne, la pollution organique et ammoniacale, représente une nuisance majeure. Si la pollution organique entraîne une désoxygénation à l'aval immédiat de la station d'Achères, c'est dans l'estuaire fluvial que la pollution ammoniacale est à l'origine d'une seconde zone de désoxygénation due à la nitrification (Romana et al. 1992). L'étude du processus de nitrification a débuté dès 1993 afin de tenter de comprendre son fonctionnement dans la basse Seine influencée par les effluents d'Achères. Les études réalisées sur la nitrification depuis 10 ans ont clairement montré que la nitrification des apports d'ammonium rejetés dans la Seine à l'aval de Paris étaient à l'origine d'un déficit en oxygène dans l'estuaire (Garnier *et al.*, 2001) et d'émission de N<sub>2</sub>O (Garnier et al. 2002 ; Garnier et al. soumis a).

La préoccupation écologique principale concernant les émissions de N<sub>2</sub>O provient du fait que le N<sub>2</sub>O atmosphérique contribue à l'effet de serre et que son potentiel est 310 fois plus important que celui du CO<sub>2</sub> (Trogler 1999). De plus, dans la stratosphère, ce gaz réagit avec les atomes d'oxygène en formant de l'oxyde nitrique (NO) détruisant la couche d'ozone et pouvant provoquer des pluies acides (Crutzen 1981). La concentration atmosphérique en N<sub>2</sub>O a augmenté de 15% depuis l'époque pré-industrielle et une stabilisation au taux actuel de 311-313 ppb nécessiterait une réduction des émissions anthropogéniques de plus de 50% (Houghton et al. 1996). Les émissions totales de N<sub>2</sub>O atteignent aujourd'hui 15.7 à 26.7 Tg N an<sup>-1</sup> (Houghton et al. 1996). Le N<sub>2</sub>O a de nombreuses sources anthropiques : les industries (production de nylon), la combustion de fuel (véhicules automobiles), les systèmes de chauffages industriels et individuels, etc. Il est toutefois produit en grande quantité par les processus microbiens, dans les sols, les stations de traitement des eaux usées et les milieux aquatiques (océans, rivières, milieux limniques). Les processus de dénitrification et de nitrification en sont les deux principales sources.

Les bactéries nitrifiantes ont un métabolisme beaucoup plus versatile que celui supposé pendant longtemps. Si en conditions oxiqes, lors du processus classique de nitrification, les bactéries nitrosantes produisent en très faible quantité du N<sub>2</sub>O comme intermédiaire de la nitrosation et plus précisément lors de l'oxydation de l'hydroxylamine en nitrite (Jiang & Bakken 1999 ; Casciotti & Ward 2001), elles seraient capables de produire de grandes quantités d'oxyde d'azote en conditions limitantes en oxygène grâce à l'ammonium comme donneur d'électron (Goreau et al. 1980 ; Kuai & Verstrate 1998) où grâce à l'hydrogène ou à des composés organiques en conditions anoxiques (Bock et al. 1995). Ces conditions de faible pression partielle en oxygène sont en effet rencontrées dans l'estuaire de Seine.

Nous avons donc cherché à quantifier les émissions estivales de 1997 à 2003 dans la basse Seine incluant l'estuaire fluvial et à établir les bilans de nitrification et de dénitrification de 1993 à 2003 (dans l'estuaire fluvial) pour appréhender la contribution de chacun des processus microbiens dans la production de N<sub>2</sub>O ; une telle étude, sur une longue période et pour des situations hydrologiques variées, permet de montrer l'évolution de l'impact des rejets d'Achères dans la basse Seine.

Afin de prévoir les effets à attendre des nouvelles mesures programmées pour 2007 en matière de traitement de l'azote, outre les observations des formes de l'azote dans la basse Seine, des études expérimentales ont été réalisées afin i) de déterminer les cinétiques qui régissent le processus de nitrification et notamment les émissions de N<sub>2</sub>O et ii) de les intégrer dans le modèle du fonctionnement écologique de la Seine.

Afin de construire le schéma conceptuel sous plusieurs étapes il est nécessaire de connaître les bactéries qui réalisent ces différentes étapes. Nous nous sommes donc par ailleurs intéressés à l'évolution de la diversité bactérienne nitrifiante dans la basse Seine afin de mieux comprendre leur origine et leur devenir et de pouvoir faire le lien entre les expériences de laboratoire et le fonctionnement du processus de nitrification *in situ*.

## 1. Evolution de la qualité de l'eau en aval de Paris

L'estuaire de Seine est le réceptacle d'un bassin versant caractérisé par une forte densité de population et une intense activité industrielle et agricole. Alors que le nitrate provient majoritairement de sources diffuses agricoles, l'ammonium est massivement apporté par les effluents de la station d'épuration d'Achères.

### 1.1. Concentrations oxygène et en azote dans la basse Seine

Les variations années après années des transformations des différentes formes d'azote dans l'estuaire (depuis 1993 jusqu'à 2003) sont principalement dues à l'hydrologie et aux quantités d'azote réduit (N Kjeldahl) et de matière organique (MO exprimée par les valeurs de DBO<sub>5</sub>, demande biologique en oxygène) apportés en Seine par les effluents dont la qualité tend à s'améliorer depuis 1998, grâce aux nouveaux traitements et à la diminution du nombre d'équivalent-habitant traités à Achères. Ces changements récents ne sont toutefois qu'une partie du plan d'amélioration à long terme du traitement des eaux usées à Paris (Billen et al. 2001).

En période estivale, les profils longitudinaux moyens des concentrations en oxygène et en azote pour les deux périodes, de 1993 à 1997 et 1998 à 2003 en conditions hydrologiques sèches (à l'exclusion de 2000 et de 2001) montrent clairement les changements sur l'estuaire de l'impact des effluents traités d'Achères (Figure 1 ; Garnier *et al.* soumise).

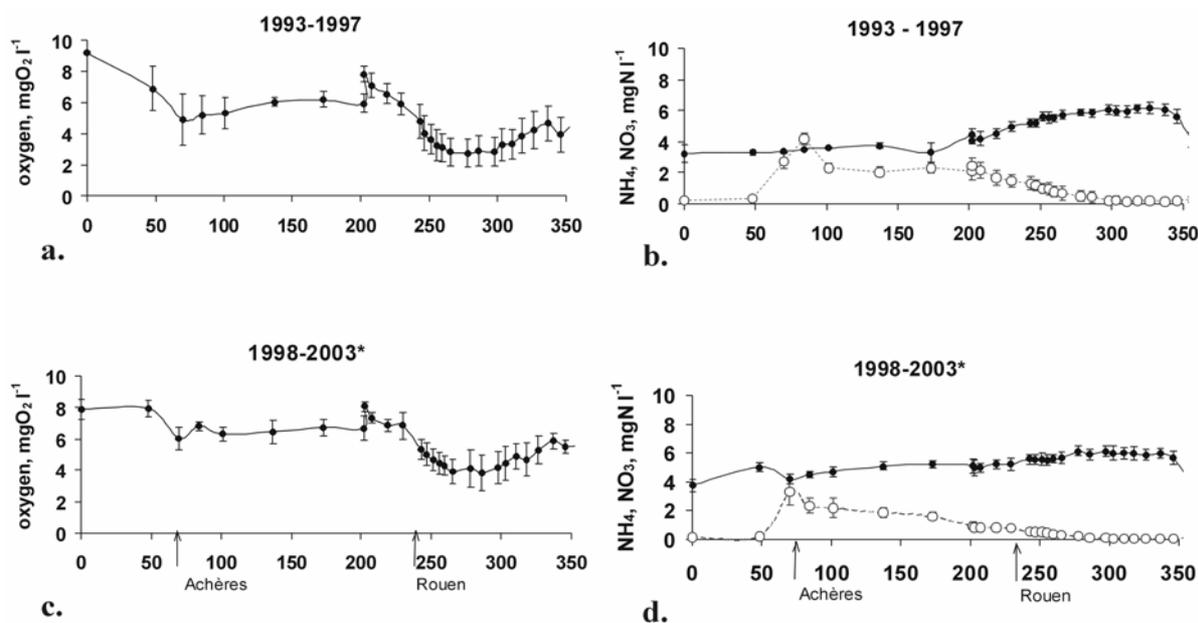
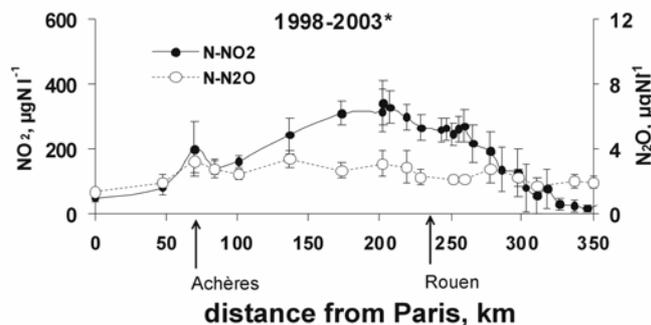
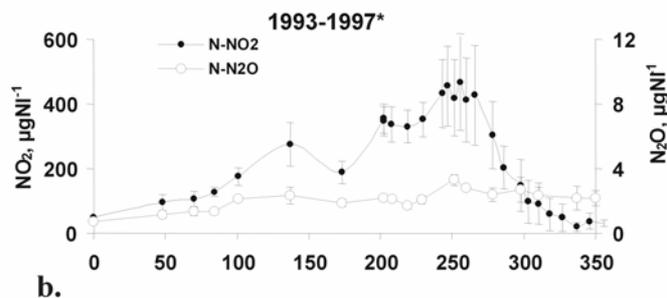


Figure 1. Variations longitudinales estivales des a) moyennes des concentrations en oxygène ( $\text{mgO}_2 \text{l}^{-1}$ ) et b) nitrate et ammonium ( $\text{mg N l}^{-1}$ ) pour les périodes sèches de 1993 à 1997 et de 1998 à 2003, les années 2000 et 2001 sont exclues.

### 1.2. Productions de Nitrite et d'oxyde nitreux

Le profil longitudinal des concentrations en  $\text{NO}_2^-$  est parfaitement en accord avec les mesures d'activités nitrifiantes potentielles (résultats non présentés), montrant un pic d'activité nitrifiante dans l'estuaire amont et donc une augmentation notable de la concentration en nitrite (Figure 2). Les concentrations en  $\text{N}_2\text{O}$  sont légèrement fortes dans l'estuaire que dans la basse Seine à l'aval du rejet des effluents d'Achères (Figure 2).

Le phénomène particulièrement frappant est l'évolution opposée des concentrations en oxygène et en nitrite, et notamment la concentration en nitrite qui augmente brusquement lorsque la concentration en oxygène est proche de  $2 \text{ mg l}^{-1}$ . Si l'on se base sur les valeurs de demi-constante de saturation pour l'oxygène pour les deux étapes de la nitrification (Brion & Billen 1998), le déficit en oxygène observé dans l'estuaire pourrait limiter la nitrification expliquant ainsi l'accumulation de nitrite mais également la production de  $\text{N}_2\text{O}$  (Garnier et al. soumise).



**Figure 2.** Variations longitudinales estivales des concentrations en nitrite ( $\text{mg N-NO}_2 \text{ l}^{-1}$ ) et en oxyde nitreux ( $\text{mg N- N}_2\text{O l}^{-1}$ ) pour les périodes sèches de 1993 à 1997 et de 1998 à 2003, en excluant les années 2000 et 2001.

### 1.3. Bilans de Nitrification et de Dénitrification

Les mesures des concentrations des différentes formes d'azote, avec un intervalle bimensuel et les valeurs journalières de débit, nous ont permis de calculer les flux d'azotes à la limite de l'estuaire d'eau douce grâce à la formule recommandée par Walling & Webb (1985), et communément utilisée pour la Seine (Meybeck *et al.* 1998; Némery *et al.* 2004).

$$\text{Flux N} = \Sigma (\text{CiQi}) \cdot \text{Qm} / \Sigma \text{Qi}$$

Ci = concentrations à un temps t

Qi = débit correspondant au temps t

Qm = moyenne des débit pour la période considérée (annuelle or estivale)

Nous avons calculé les flux de nitrification (différence apport-export des formes réduites d'azote : N Kjeldahl) et de dénitrification (différence apport-export de l'azote total), représentant respectivement en moyennes annuelles 43 et  $71.10^3 \text{ kg de N.j}^{-1}$  de 1993 à 2003, les valeurs estivales (Juillet-Septembre) représentant respectivement 73 et 57 % des flux annuels (Garnier *et al.* Soumis). L'intensité de dénitrification dans l'estuaire amont semble être étroitement liée à la nitrification, elle-même étant liée à la quantité d'azote (Kjeldahl) apportée par les effluents traités d'Achères. L'émission de  $\text{N}_2\text{O}$  attribuable conjointement aux processus de nitrification et de dénitrification, a été estimée à environ  $40 \text{ kg N.j}^{-1}$  dans le même secteur (Garnier *et al.* soumis a).

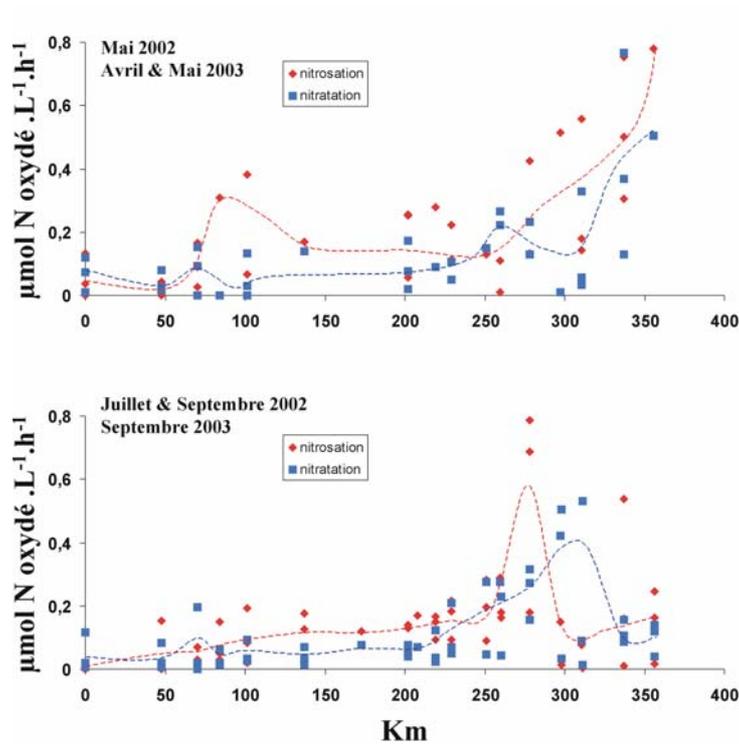
Cette étude a permis de faire un bilan du processus de nitrification dans la basse Seine : en été, la nitrification peut oxyder entre 16 et  $55.10^3 \text{ kg N.j}^{-1}$ . De plus, il s'agit de la première étude montrant clairement l'importance du processus de dénitrification dans la basse Seine, estimé également par un bilan d'azote. Les deux processus se compensent, ce qui explique pourquoi dans la basse Seine, on ne voit pas apparaître autant de nitrate que d'ammonium consommé, puisque le processus de dénitrification réduit le nitrate au fur et à mesure de sa production.

Ce bilan des émissions de  $\text{N}_2\text{O}$ , à l'échelle de la basse Seine, nous permet de dresser des hypothèses relativement robustes quant à l'origine de l'oxyde nitreux produit dans la basse Seine. En effet, nous avons vu que les processus de dénitrification benthique et de nitrification dans la colonne d'eau devaient chacun contribuer aux émissions de  $\text{N}_2\text{O}$ , mais leur importance relative n'est pas encore déterminée.

Il semble qu'à l'aval immédiat des rejets de la station d'épuration d'Achères la dénitrification puisse être le processus majeur de production de  $\text{N}_2\text{O}$ . Plus à l'aval, au niveau de l'estuaire amont, la nitrification étant très active et l'oxygène déficitaire nous pensons que la nitrification-dénitrifiante pourrait grandement contribuer au flux de  $\text{N}_2\text{O}$  observé à ce niveau.

## 2. Nitrification, populations nitrifiantes et émissions de N<sub>2</sub>O de à l'aval de Paris

### 2.1. La nitrification



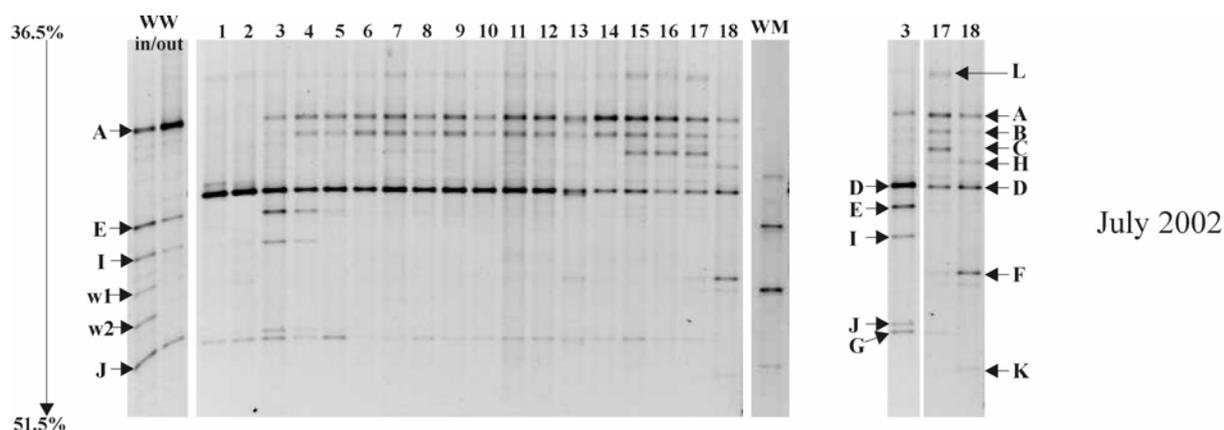
**Figure 3.** Activités nitrosantes et nitratantes potentielles le long du continuum de la basse Seine. Données des campagnes printanières (mai 2002, avril et mai 2003) et estivales (juillet et septembre 2002 et septembre 2003). Des courbes de tendance générale sont figurées en pointillés pour les deux activités de nitrosation et nitratation.

Les mesures d'activités nitrosantes et nitratantes potentielles réalisées sur les campagnes de 2002 et 2003 sont séparées en campagnes printanières (mai 2002 et avril et mai 2003) et estivales (juillet et septembre 2002 et septembre 2003) (Figure 3). Pour la majorité des campagnes, il existe un léger pic d'activités nitrifiantes potentielles à l'aval immédiat des rejets des effluents d'Achères. Cette activité est évidemment le reflet de l'apport anthropique de microorganismes nitrifiants et d'ammonium par la station d'épuration. Quelle que soient les saisons, l'activité nitrifiante potentielle est maximale dans la zone estuarienne où les matières en suspensions augmentent subitement confortant l'idée que les microorganismes nitrifiants ont tendance à s'accrocher aux matières en suspension (Prosser 1989 ; Brion et al. 2000).

Au moment des campagnes printanières, le débit étant plus important, le bouchon vaseux n'étant pas encore formé et la croissance des bactéries étant plus faible, l'activité nitrifiante est maximale à la station la plus en aval, à l'entrée de la baie de Seine. En ce qui concerne les campagnes estivales, nous remarquons un changement significatif des profils d'activités nitrosantes et nitratantes potentielles. Les pics d'activités potentielles apparaissent cette fois au niveau de l'estuaire plus en amont où le bouchon vaseux s'est formé, le débit d'étiage et la température estivale plus élevée, permettent aux populations bactériennes de se développer plus rapidement. On observe un léger décalage entre les 2 pics : le pic d'activité nitrosante apparaissant plus tôt (Km 278, station Duclair) que celui d'activité nitratante. Cette observation peut permettre d'expliquer l'accumulation de nitrite dans l'estuaire.

## 2.2. Les populations nitrifiantes

Les populations bactériennes nitrifiantes ont été étudiées pour mieux comprendre leur origine et leur devenir. Afin d'analyser l'évolution de la communauté nitrosante dans la basse Seine et de mettre en évidence d'éventuelles variations spatiales et temporelles pour trois profils longitudinaux (juillet et septembre 2002 et septembre 2003) de l'amont de Paris à l'estuaire, nous avons utilisé la PCR compétitive pour quantifier les bactéries nitrosantes et nitrifiantes et analysé grâce à la technique DGGE (électrophorèse en gradient dénaturant) des fragments d'ADNr 16S spécifiques des bactéries nitrosantes (AOB) de la sous-classe  $\beta$  des Protéobactéries (Figure 4 ; Cébron et al. 2004).



**Figure 4.** Profil DGGE des bactéries nitrosantes de la sous classe  $\beta$  des Protéobactéries, obtenu par nested PCR de l'ADNr 16S, pour la campagne de juillet 2002. Les puits 1 à 18 correspondent aux 18 stations de prélèvement dans la basse Seine depuis SaintMaurice (st. 1) à Honfleur (st.18), les effluents d'Achères étant rejetés entre la station 2 et 3; les puits "WW in" et "WW out" représentent respectivement les échantillons d'eau brute et traitée d'Achères. Le puits WM (weight markers) est un marqueur de taille. Chaque bande représente une espèce bactérienne nitrosante différente. Les principales bandes observées sont annotées par une lettre de A à L. Toutes ces bandes ont été purifiées à partir des gels DGGE et séquencées afin d'en déterminer l'affiliation génétique.

Les résultats des trois campagnes d'échantillonnage ont montré une stabilité de l'évolution des populations bactériennes nitrosantes le long du continuum (Cébron *et al.* 2004). Alors que certaines bactéries sont clairement issues de la stations d'épuration (bandes A, E, I et J, Figure 4) et se maintiennent dans le milieu récepteur, d'autres apparaissent plus loin à l'aval des effluents (bandes B et C), contribuant ainsi à accroître la diversité microbienne vers l'aval, dans le maximum d'activité nitrifiante de l'estuaire fluvial (Cébron *et al.*, 2003 ; 2004). La majorité des bactéries nitrosantes (75-90%) présentes dans la basse Seine en aval des effluents appartient à la lignée 6a représentée par les bactéries *N. oligotropha* et *ureae*. Cette lignée dominante est représentée par trois bandes sur le profil DGGE. L'espèce de la lignée 6a, introduite massivement par les effluents d'Achères, survit et se développe dans le milieu récepteur loin en aval jusque dans l'estuaire, et représente près de 40 % de la population nitrosante totale. Les deux autres espèces appartenant à la lignée 6a semblent être des bactéries autochtones ; l'une apparaît quelques kilomètres en aval des rejets d'Achères grâce à l'enrichissement du milieu en substrat ammoniacal, l'autre apparaît dans la partie amont de l'estuaire (eau douce), plus adaptées aux conditions rencontrées dans cette zone estuarienne (augmentation des matières en suspension, faible concentration en ammonium, et fort renouvellement de la matière organique). Le reste de la population bactérienne nitrosante est représenté dans des proportions égales par des espèces proches de *Nitrosospira* et *Nitrosococcus mobilis*.

Nous avons par ailleurs appréhender la diversité bactérienne nitrifiante en ciblant les deux genres bactériens nitrifiants, *Nitrobacter* et *Nitrosospira*. Les résultats montrent que les *Nitrobacter* sont plus caractéristiques de l'amont alors que les *Nitrosospira* proviendraient plus des effluents, les deux se maintenant toutefois dans des proportions similaires en basse Seine (Cébron *et al.*, submitted b).

## 2.3. Emissions de N<sub>2</sub>O

Les émissions de N<sub>2</sub>O dans la basse Seine sont estimées actuellement à environ 100 kgN j<sup>-1</sup> (Tableau 1).

**Tableau 1.** Émissions de N<sub>2</sub>O (kgN j<sup>-1</sup>) dans l'estuaire d'eau douce de la Seine (Poses-Caudebec: km 202-310) depuis 1997 à 2003, les valeurs sont des moyennes estivales. Les émissions de la basse Seine, depuis Paris jusqu'à Poses (notées ici : downstream the effluents) sont présentées ainsi que celles de la Seine en amont des effluents (notées ici : upstream the effluent) données en comparaison.

kg N d <sup>-1</sup>	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003
estuary	41	40	34		39	43	30
Downstream the effluents	52	73	88		59	102	52
Upstream the effluents	5	8	14		5	10	28
<b>total</b>	<b>99</b>	<b>121</b>	<b>136</b>		<b>103</b>	<b>156</b>	<b>111</b>

Afin de mieux cerner les conditions propices au processus de nitrification-dénitrifiante et déterminer les paramètres cinétiques de cette étape du cycle de l'azote nouvellement étudiée dans la Seine, nous avons analysé la nitrification en conditions contrôlées au laboratoire.

## 3. Détermination des cinétiques de production de N<sub>2</sub>O et modélisation

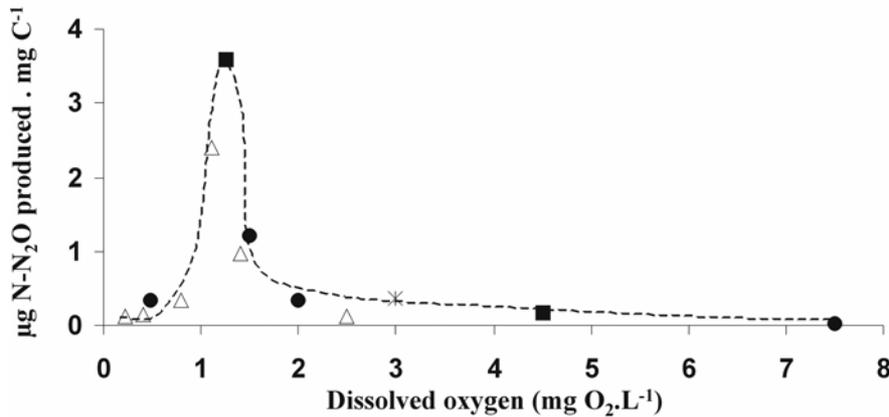
D'après le bilan d'émission de N<sub>2</sub>O présenté précédemment, il semble que les deux processus de nitrification et de dénitrification contribueraient chacun significativement aux émissions de N<sub>2</sub>O dans la basse Seine. Contrairement au processus de dénitrification, relativement bien connu (Garcia-Ruiz et al. 1998), l'étape de nitrification-dénitrifiante est encore peu étudiée de manière systématique. Dans cette optique, nous avons réalisé des cultures en batch et en chémostat, en utilisant de l'eau de l'estuaire amont comme culture nitrifiante et exploré les facteurs de contrôle principaux (oxygène, ammonium et nitrite) de la production de N<sub>2</sub>O.

Nos objectifs sont ici de : 1) recréer en conditions contrôlées une culture nitrifiante afin d'en déterminer les paramètres de croissance et de les confronter avec ceux de la littérature définis en cultures pures, 2) déterminer pour quelle valeur de stress oxydant, l'étape de nitrification-dénitrifiante apparaît, 3) comprendre dans quelles conditions de substrat la nitrification-dénitrifiante se met en place, et dans quelle mesure elle contribue aux dégagements de N<sub>2</sub>O, et enfin, 4) définir les paramètres cinétiques de production de N<sub>2</sub>O par une population bactérienne nitrosante complexe naturellement présente dans la basse Seine. L'ensemble de ces objectifs ayant pour but de compléter la formulation du processus de nitrification dans le modèle RIVE de Riverstrahler.

### 3.1. Facteurs de contrôle de production de N<sub>2</sub>O

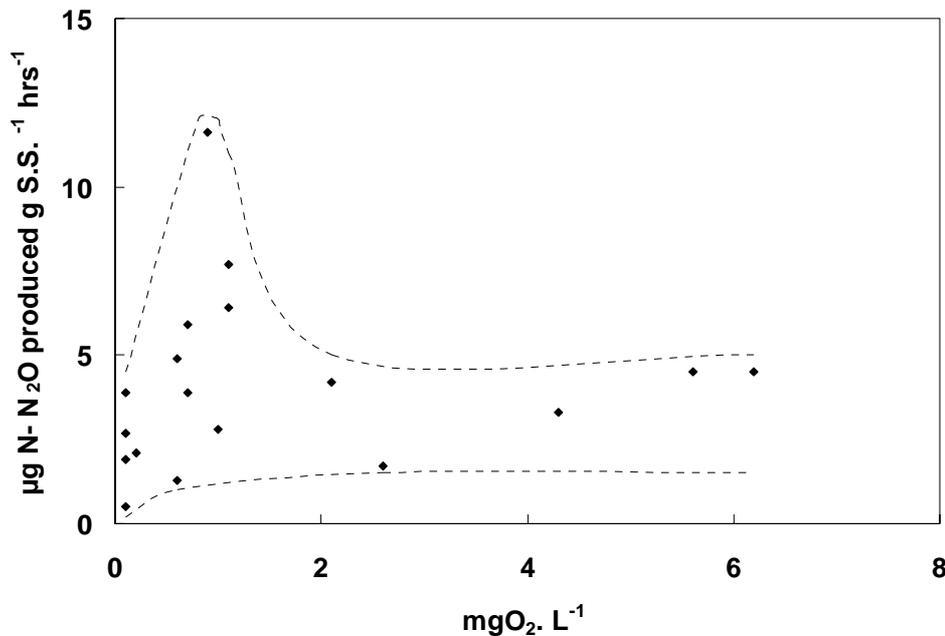
Pour cerner au mieux les conditions induisant ces émissions de N<sub>2</sub>O par nitrification-dénitrifiante, des cultures bactériennes nitrifiantes (en batch et chémostat) ont été réalisées à partir d'eau de la Seine. Au cours de ces expériences, la diversité de la communauté bactérienne nitrosante (AOB) a été déterminée par analyse moléculaire (DGGE). Nous avons ainsi pu montrer que les populations cultivées lors de nos expériences sont proches de celles naturellement présentes dans la Seine. Nous avons étudié les cinétiques de nitrification en considérant les deux populations bactériennes fonctionnelles nitrosantes et nitratantes. Nos résultats expérimentaux ont donc permis de confirmer les paramètres cinétiques des deux groupes bactériens, c'est-à-dire les taux de croissance, les rendements de croissance et les constantes de demi-saturation. À partir de ces paramètres et compte tenu des caractéristiques du chémostat, nous avons déterminé la biomasse nitrifiante (en mg C)

présente dans les cultures tout au long des expériences. Pendant les expériences en batch et chemostat, des cinétiques de production de  $N_2O$  ont été réalisées dans diverses conditions. Nous avons examiné l'effet des concentrations en oxygène dissous, en ammonium et en nitrite sur les taux de production de  $N_2O$ . À notre connaissance, notre étude est la première consacrée à la détermination des concentrations optimales en  $O_2$ ,  $NH_4^+$  et  $NO_2^-$  menant à la production maximale de  $N_2O$  par nitrification-dénitrifiante pour des populations bactériennes naturelles de milieux d'eau douce. Nous avons testé une gamme assez large de concentrations en oxygène et nous avons montré expérimentalement que le maximum de production de  $N_2O$  se produit à des concentrations en oxygène comprises entre 1.1 et 1.25  $mg.L^{-1}$ , tant dans le milieu naturel (Figure 5 : Cébron *et al.*, submitted b) que dans les boues activées de stations d'épuration (Figure 6 : Tallec *et al.* submitted).



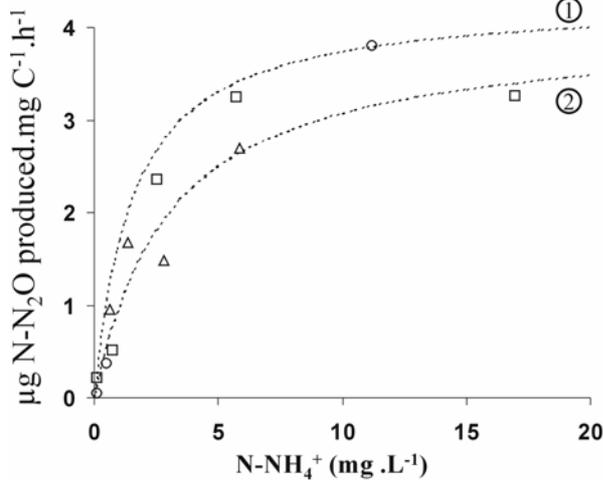
**Figure 5.** Production de  $N_2O$  en fonction de la concentration en oxygène dans les expériences en chemostats. Les différents symboles représentent les 4 expériences en chemostats.

Si on obtient bien la même tendance de production de  $N_2O$  tant pour les bactéries nitrifiantes de l'eau de la Basse Seine mise en culture dans leur eau d'origine, que pour les bactéries nitrifiantes des boues d'épuration, i.e. un maximum autour de 1-1.5  $mg O_2 l^{-1}$ , il existe une plus grande dispersion des résultats liée à l'hétérogénéité des boues (Figure 6). Dans les deux cas (eau de Seine ou boues activées), la production de  $N-N_2O$  représente environ de 0.4 à 2 % du  $N-NH_4$  oxydé.

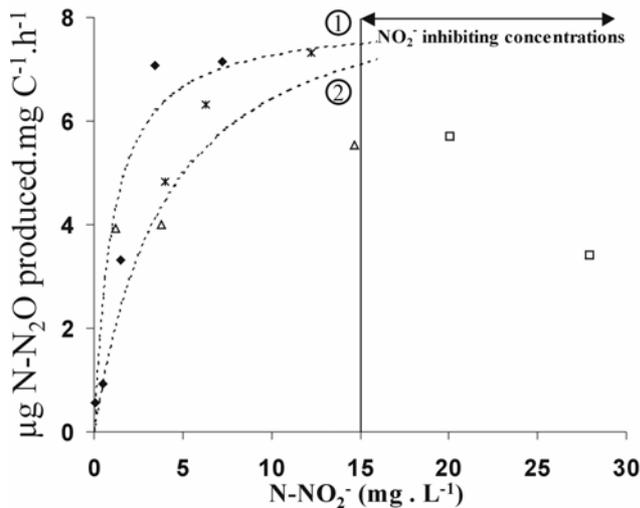


**Figure 6.** Production de  $N_2O$  en fonction de la concentration en oxygène dans des expériences en batch séquentiel utilisant des boues activées. Les courbes en pointillés représentent l'enveloppe des valeurs.

Nous avons déterminé la production de  $N_2O$  en fonction des concentrations en ammonium et en nitrite en condition optimale d'oxygénation. Les résultats de cultures de bactéries de la Basse Seine suivant une courbe hyperbolique de Michaëlis-Menten, les paramètres cinétiques ( $V_{max}$  et  $K_s$ ) ont été déterminés (Figure 7). Le taux de production du maximal de  $N_2O$  ( $V_{max}$ ) a été estimé à 8-9  $\mu\text{g N-N}_2\text{O}$  produit par  $\text{mg C}$  (biomasse) et par heure, les constantes de demi-saturation de la nitrification-dénitrifiante sont pour l'ammonium :  $K_{S-NH_4^+} = 1.5\text{-}3 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$  (Figure 8) et pour le nitrite :  $K_{S-NO_2^-} = 1\text{-}4 \text{ mg N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$  (Figure 7) (Cébron *et al.*, submitted b). Les paramètres cinétiques déterminés par Brion et Billen (1998) pour des populations nitrosantes et nitratantes en culture pure ont été validés ici pour des populations naturelles.



**Figure 7.** Production de  $N_2O$  en stress oxygène ( $O_2 = 1.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) exprimée en fonction de la concentration en ammonium présente dans la culture batch. Les différents symboles correspondent à 3 cultures batch indépendantes. Deux courbes de Michaëlis-Menten ont été tracées, dont les paramètres cinétiques sont les suivants : 1)  $V_{N_2Omax} = 4.3 \text{ } \mu\text{g N-N}_2\text{O produit} \cdot \text{mgC}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  et  $K'_{NH_4} = 1.5 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ ; 2)  $V_{N_2Omax} = 4 \text{ } \mu\text{g N-N}_2\text{O produit} \cdot \text{mgC}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  et  $K'_{NH_4} = 3 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ .

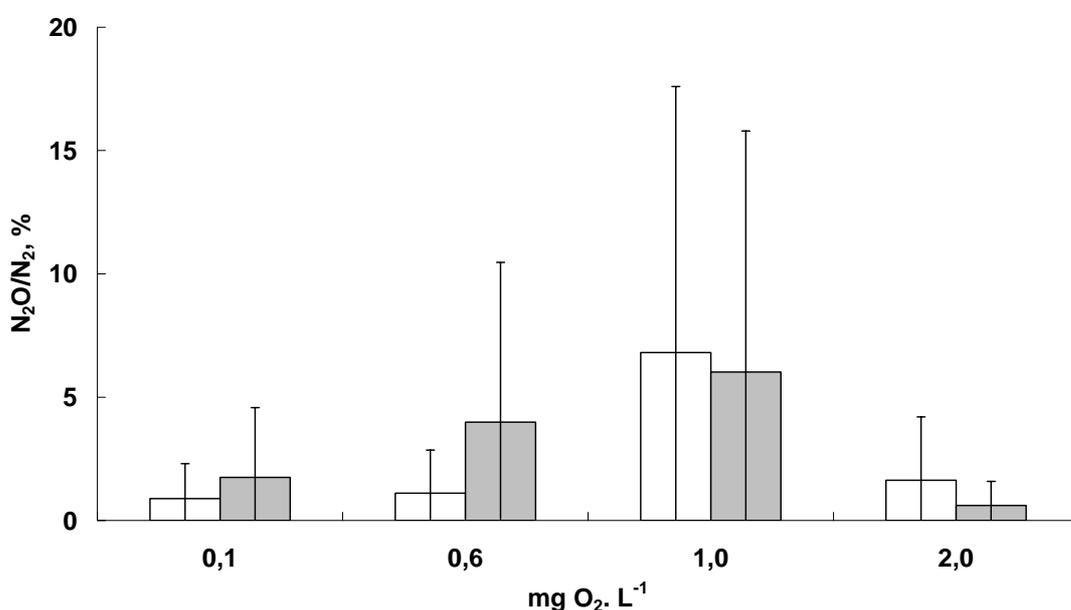


**Figure 8.** Production de  $N_2O$  en stress oxygène ( $O_2 = 1.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) exprimée en fonction de la concentration en nitrite présente dans la culture batch. Les différents symboles correspondent à 4 cultures batch indépendantes. Deux courbes de Michaëlis-Menten ont été tracées, dont les paramètres cinétiques sont les suivants : 1)  $V_{N_2Omax} = 8 \text{ } \mu\text{g N-N}_2\text{O produit} \cdot \text{mgC}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  et  $K'_{NO_2} = 1 \text{ mg N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$ ; 2)  $V_{N_2Omax} = 9 \text{ } \mu\text{g N-N}_2\text{O produit} \cdot \text{mgC}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  et  $K'_{NO_2} = 4 \text{ mg N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$ .

Cette étude du processus de nitrification au niveau des trois étapes, nitrosation, nitratisation et nitrification-dénitrifiante, en conditions contrôlées de laboratoire (pH, température, oxygénation, concentrations en ammonium et nitrite), nous a permis : i) de valider les paramètres cinétiques (Tableau 2) attribués aux processus d'oxydation de l'ammonium et du nitrite et réalisés par les populations bactériennes nitrifiantes naturellement présentes dans la basse Seine. ii) de déterminer les valeurs des paramètres (Tableau 2) contrôlant la production de  $N_2O$  par nitrification-dénitrifiante et d'établir les gammes de concentrations en oxygène, ammonium et nitrite pour lesquelles les flux de  $N_2O$  sont maximums.

### 3.2. Proportion des émissions de $N_2O$ par rapport à celles de $N_2$

Des expériences ont été menées sur les cultures des boues activées des STEPS, pour appréhender la proportion de  $N_2O$  par rapport au  $N_2$  lors des processus de nitrification dénitrifiante (Figure 9). Cette expérience a été réalisée avec un apport de nitrites pour éviter toute limitation et avec des inhibiteurs pour différencier les origines des gaz.

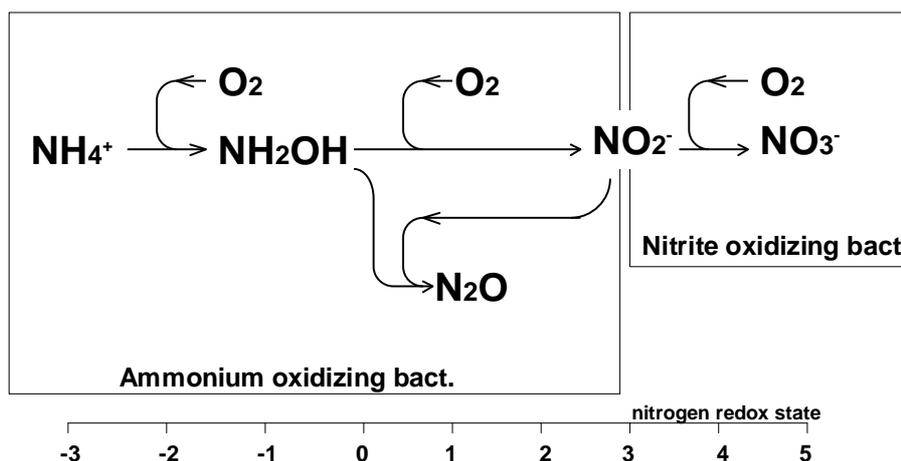


**Figure 9:** Fraction des émissions d'oxyde nitreux ( $N_2O$ ) par rapport au diazote ( $N_2$ ) en rates ( $N_2O:N_2$ , %) dans des boues activées par la Nitrification Dénitrifiante (ND, blanc) et la Dénitrification (D, gris), avec un ajout de nitrite (Tallec et al., submitted).

Cette proportion est la plus élevée pour des concentrations d'oxygène autour de  $1 \text{ mgO}_2 \text{ l}^{-1}$  (de l'ordre de 6 %), mais reste relativement faible en deçà et au delà du maximum (de l'ordre de 1 %). Il est intéressant de noter ici que ces proportions présentent les mêmes variations pour la nitrification dénitrifiante et la dénitrification. L'amplitude des écarts-types montrent de nouveau de grandes variations compte tenu de l'hétérogénéité des boues.

### 3.3. Modélisation

Les paramètres cinétiques déterminés en conditions expérimentales contrôlées, ont été utilisés dans la modélisation du processus de nitrification et des émissions de  $N_2O$  dans la basse Seine. La nouvelle représentation de la nitrification, inclue la nitrification dénitrifiante, à l'origine du  $N_2O$  (Figure 10).



**Figure 10.** Représentation conceptuelle schématique de la nitrification, incluant les différentes étapes de l'oxydation de l'ammonium et de nitrite lors de la nitrification dénitrifiante, sur la base de l'approche expérimentale de la physiologie des bactéries (Brion & Billen, 1998; Cébron et al., submitted) et de la caractérisation des populations (Cébron et al., 2003; Cébron et al., 2004).

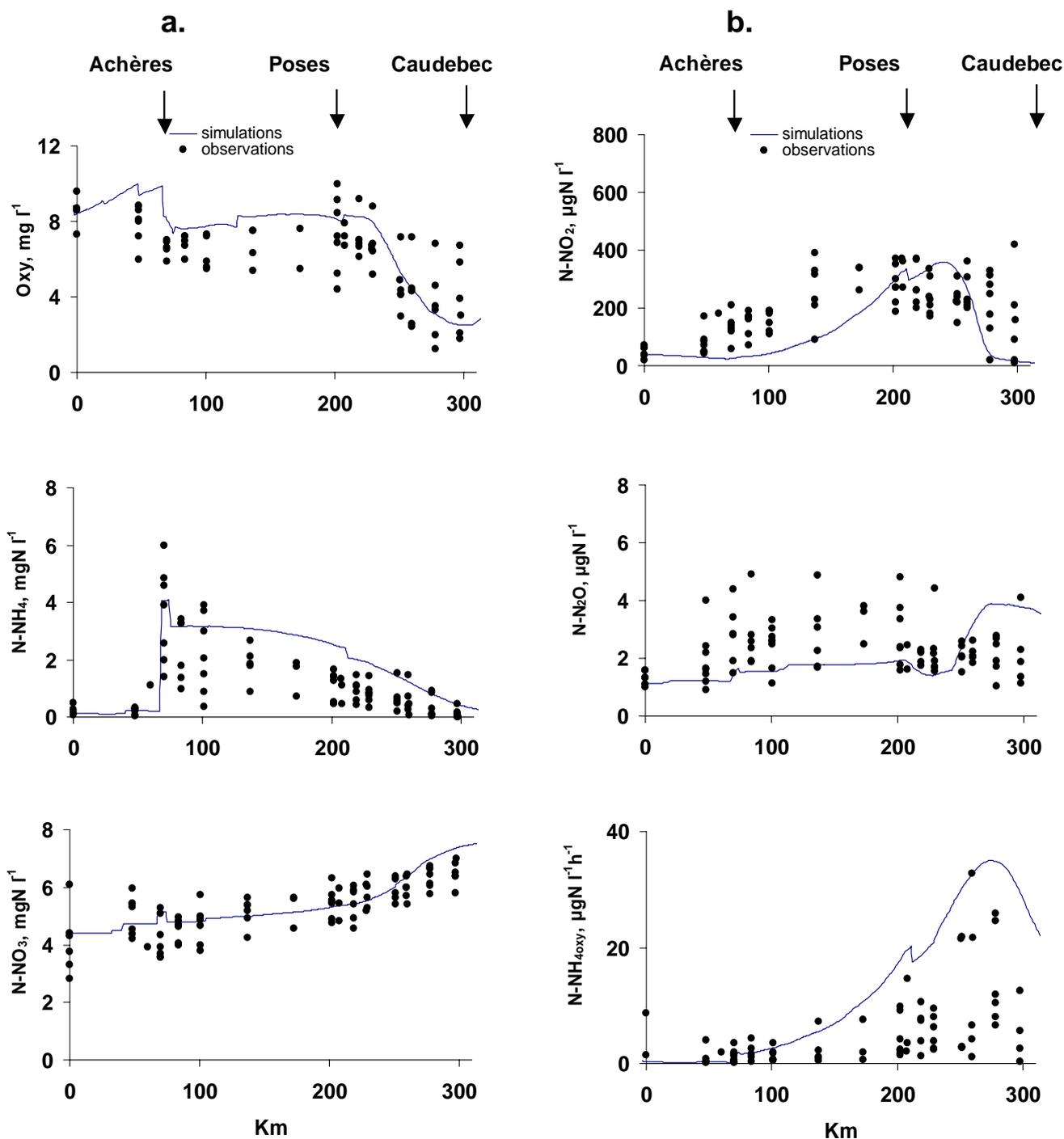
Les valeurs des paramètres utilisés dans le modèle sont listées dans le tableau 2.

**Tableau 2.** Paramètres cinétiques de la nitrosation, de la nitratisation et ceux contrôlant la production de  $N_2O$  par nitrification-dénitrifiante

symbol	parameter	units	Ammonium oxidizing bacteria (AOB)	Nitrite oxidizing bacteria (NOB)
$\mu_{max}$	max.growth rate	$h^{-1}$	0.04	0.06
Y	growth yield	$\mu gC/\mu gN$	0.08	0.02
$Spv_{max}$ ( $=\mu_{max}/Y$ )	max.specific activity	$mgNmgC^{-1}h^{-1}$	0.5-0.8	3
$K_s$	half-saturation cst for substrate	$mgN L^{-1}$	3	0.3
$K_{O_2}$	half-saturation cst for oxygen	$mgO_2 L^{-1}$	0.6	1.2
$S_{O_2}$	$O_2$ threshold for nitrifier denit.	$mgO_2 L^{-1}$	1.5	-
$Spv_{max} N_2O$	max.spec. rate of $N_2O$ prod.	$mgNmgC^{-1}h^{-1}$	0.008	-
$K'_{NO_2}$	half-saturation cst for nitrite	$mgN L^{-1}$	1-4	-
$topt$	optimum temperature	$^{\circ}C$	23	23
$d_{ti}$	temperature range	$^{\circ}C$	12	12
$kd$	Mortality rate	$h^{-1}$	0.015	0.015

La dénitrification benthique n'a pas été étudiée avec une approche microbiologique comme celle de la nitrification, mais d'un point de vue biogéochimique (Sanchez, 1997), ou avec l'aide de la biogéochimie isotopique (Sénilo, 2003). Elle est prise en compte à l'interface eau-sédiment par le modèle diagénétique et est considérée comme productrice de 10 % de  $N_2O$  sur la base de travaux de la littérature.

Ces formulations conduisent à simuler de manière satisfaisante les variations longitudinales des formes inorganiques dissoutes de l'azote ( $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $NH_4^+$ ), de l'oxygène, ainsi que du  $N_2O$  et de l'activité nitrifiante dans les conditions de débit estivaux ( $225 m^3 s^{-1}$ ), (Figure 11).

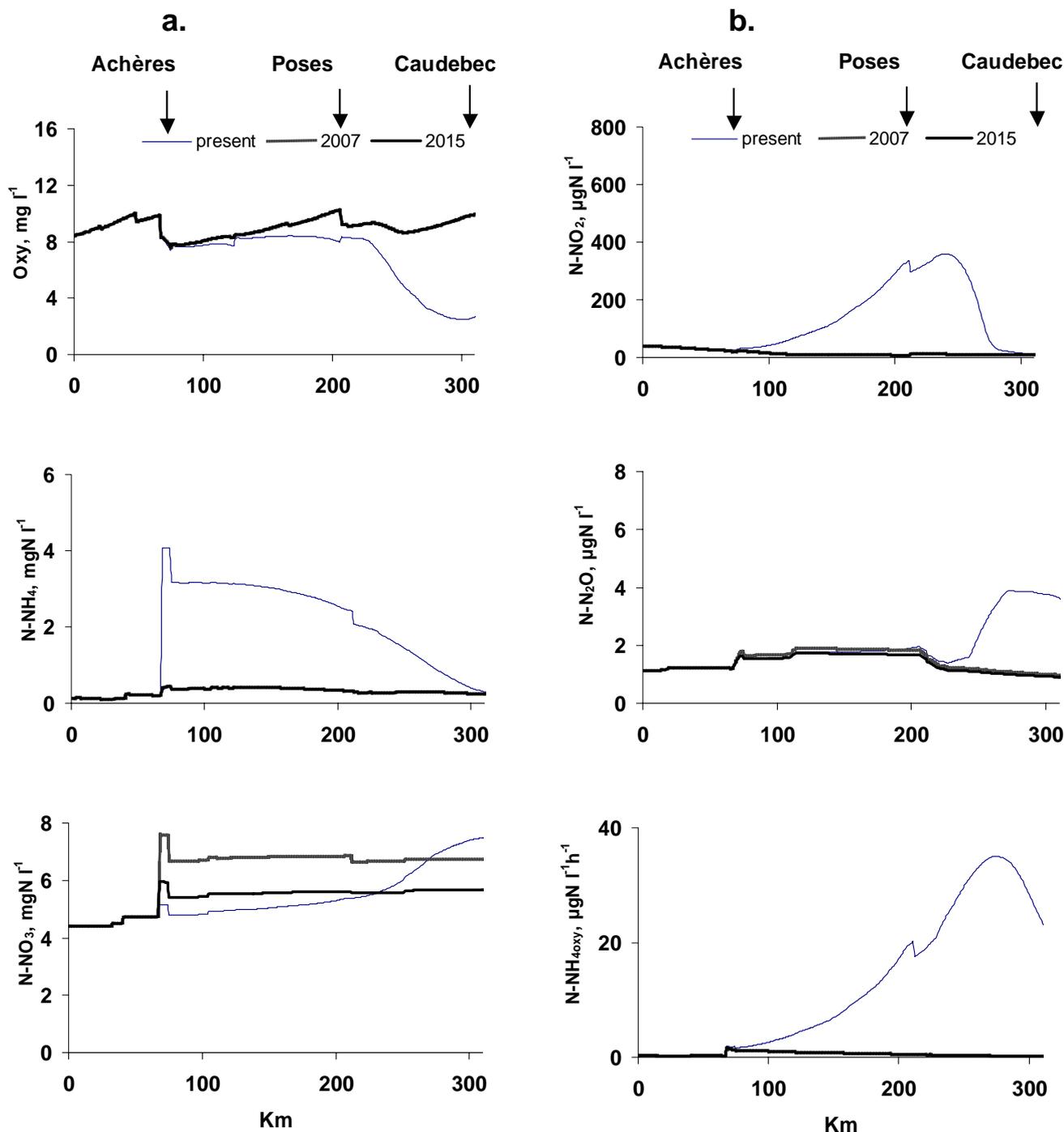


**Figure 11.** Simulations par le modèle des a) concentrations en oxygène et en ammonium et nitrate ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ) et b) en nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ), oxyde nitreux ( $\text{N}_2\text{O}$ ), et activités nitrifiantes potentielles. Les profils longitudinaux dans la Basse Seine, de Paris (km 0) à Caudebec (km 310) sont simulés pour un débit estival typique à basses eaux ( $225 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ ). Les simulations sont comparées aux observations récoltées de 1998 à 2003.

La nitrification de l'ammonium et l'accroissement du nitrate sont tout à fait bien représentés ; il en est de même du déficit en oxygène dans l'estuaire amont (Figure 11a). En revanche, le modèle tend à sous-estimer le nitrite et le  $\text{N}_2\text{O}$  à l'aval immédiat des rejets d'Achères, et la simulation de l'activité nitrifiante potentielle représente l'enveloppe supérieure des valeurs (Figure 11b). Une meilleure représentation de la dénitrification pourrait améliorer ces dernières variables. Il n'en reste pas moins que le modèle rend tout à fait bien de l'ordre de grandeur des valeurs.

On peut considérer que le modèle est validé sur les situations actuelles, ce qui nous conduit à tester des scénarios concernant le futur état écologique de la Seine. Nous avons exploré les effets d'une amélioration des traitements dans la station d'épuration d'Achères, ceux qui seront appliqués i) en

2007 (90 % de nitrification, 30 % de dénitrification) et, ii) en 2015 (90 % de nitrification, 70 % de dénitrification). Les caractéristiques des effluents traités sont ainsi proches de celles que l'on trouve à la STEP de la Colombes, fonctionnant avec un traitement tertiaire depuis sa construction (Garnier et al, submitted b). Nous pouvons ainsi anticiper les conséquences d'un tel changement sur le déroulement des processus dans la basse Seine et estimer la pollution résiduelle en oxyde nitreux (Figure 12).



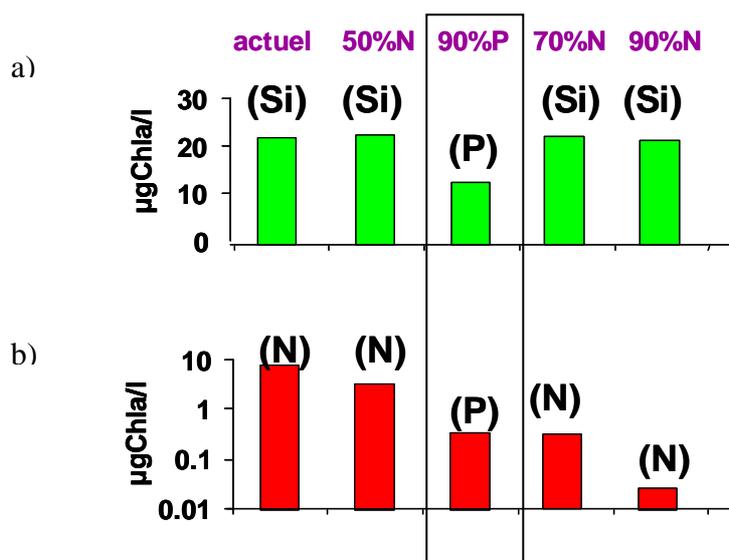
**Figure 12.** Simulations par le modèle des a) concentrations en oxygène et en ammonium et nitrate ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ) et b) en nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ), oxyde nitreux ( $\text{N}_2\text{O}$ ), et activités nitrifiantes potentielles pour une situation estivale, tenant compte de la mise en place d'un traitement tertiaire, comme prévu en 2007 (une nitrification à 90 % et une dénitrification à 30 %), ainsi qu'en 2015 (une nitrification à 90 % et une dénitrification à 70 %). Les simulations sont comparées à la situation présente de la figure 11.

Si le traitement appliqué en 2007 permet d'annuler le déficit en oxygène dans l'estuaire avec des apports en azote peu modifiés au total, une augmentation de la dénitrification comme prévue en 2015 permet une réduction significative des flux d'azote à la zone côtière (Garnier *et al.*, *submitted a*). Les émissions de N<sub>2</sub>O faibles dans la basse Seine seront transférées vers les stations d'épuration (Tallec *et al.* in prep), (Figure 12).

L'élimination drastique de l'ammonium dans les effluents traités, conduit à une bonne oxygénation de l'estuaire, due à la réduction de l'activité nitrifiante; les concentrations en N<sub>2</sub>O et en nitrite décroissent également de manière spectaculaire. Il est intéressant de noter que les 30 % de dénitrification réduisent peu les apports à la zone côtière, cette réduction étant insuffisante pour réduire l'eutrophisation (Cf. Cugier *et al.*, 2005).

A l'horizon 2015, une amélioration du traitement de l'azote à la STEP d'Adheres, avec une dénitrification portée à 70 % de la charge en azote, est prévue. De même que pour le scénario 2007, les profils longitudinaux des différentes variables ont été calculés (Figure 12). Mis à part le comportement du nitrates, le traitement supplémentaire ne change pas les profils des autres variables. Dans ce cas, les effets à la zone côtière sont tout à fait significatifs.

En effet, en utilisant les résultats du modèle de la Basse Seine, tels qu'obtenus ici, comme données d'entrée du modèle de la zone côtière (modèle 3D du développement phytoplanctonique, Cugier & Le Hire 2002 ; Cugier *et al.* 2004; Cugier *et al.*, 2005), il apparaît clairement une diminution du développement des algues nocives pour le milieu (les Dinoflagellés qui émettent des substances toxiques pour les crustacés ou mollusques qui deviennent alors impropres à la consommation), (Figure 13).



**Figure 13.** Biomasse algale (en concentration en chlorophylle a) pour différents scénarios de traitement de l'azote (50%, 70% et 90 % de réduction) en stations d'épuration en comparaison avec la situation actuelle (actuel). Une situation de réduction de phosphore (90 %) est également montrée. a) biomasse des diatomées, b) biomasse des dinoflagellés (NB l'échelle logarithmique des dinoflagellés). (N), (P), (Si) indique les limitations en azote, phosphore et silice respectivement.

#### 4. Discussion et conclusions

De nombreuses études se sont attachées à quantifier l'oxyde nitreux ( $N_2O$ ) au cours des dernières années, mais peu se sont focalisées sur la détermination des cinétiques de production de  $N_2O$  par la nitrification dénitrifiante. Les études des populations de bactéries nitrifiantes ont montré que ce sont bien les bactéries oxydant l'ammonium qui réalisent également le processus de nitrification dénitrifiante dans des conditions de déficit en oxygène (environ  $1 \text{ mg O}_2 \text{ l}^{-1}$ ), (Cébron et al., 2004).

Dans la basse Seine, les émissions de  $N_2O$  sont d'environ  $120 \text{ kg N-N}_2\text{O j}^{-1}$  en condition estivale, mais les variations saisonnières sont relativement faibles (Garnier *et al.*, a). En extrapolant à l'ensemble du réseau hydrographique les taux observés,  $1.2 \text{ to } 2.2 \text{ mg N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{ j}^{-1}$  sur les  $310 \cdot 10^6 \text{ m}^2$  d'interface eau-air (Guerrini et al. 1998), on obtient des émissions journalières de  $370 \text{ to } 680 \text{ kg N-N}_2\text{O}$ . Les émissions de  $N_2O$  en basse Seine ne représenteraient que 20–30% des émissions par l'ensemble du réseau hydrographique. Les premières mesures de  $N_2O$  dans les petits ruisseaux amont montrent en effet que les concentrations de  $N_2O$  plus élevées dans les secteurs de pollution par les effluents domestiques des zones urbaines, varient également en fonction de l'occupation des sols, les concentrations en tête de bassin étant 3 fois plus importantes en zone agricole qu'en milieu forestier.

L'originalité de l'approche repose ici sur la possibilité de simuler le  $N_2O$  en prenant explicitement en compte les processus bactériens et leurs facteurs de contrôle. Cette approche qui fait le lien entre les processus à l'échelle de l'organisme et les mesures intégratives à l'échelle régionale d'un bassin diffère conceptuellement des études statistiques, utilisées pour quantifier les flux d'azote dissous et gazeux à l'échelle globale (Setzinger & Kroeze, 1998; Green et al., 2004; Bouwman et al., 2002). Cependant, une meilleure représentation des émissions de  $N_2O$  par la dénitrification est encore nécessaire, les expériences réalisées en laboratoire montrant que la dénitrification, autant que la nitrification, était une source de  $N_2O$  (Tallec et al., submitted).

À l'échelle globale, La plupart des scénarios considèrent que les émissions anthropiques de  $N_2O$  sont surtout liées à l'activité agricole domestique dans le bassin et représentent en moyenne 1.25% (0.25–2.25%) de la quantité d'azote appliquée sous forme de fertilisants minéraux ou organique (IPCC, 2000). Dans le bassin de la Seine, des mesures directes d'émission de  $N_2O$  sur des sols cultivés représentatifs (fertilisés avec un apport de  $200 \text{ kgN} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{yr}^{-1}$ ) ont montré que les émissions sont de  $0.4\text{--}0.8 \text{ kgN-N}_2\text{O} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{an}^{-1}$  (Khalil, 2003), ce qui représente effectivement un pourcentage de 0.2 to 0.4 % des engrais apportés. On peut ainsi tenter une estimation des émissions de  $N_2O$  du bassin de la Seine ( $75 \cdot 10^3 \text{ km}^2$  et une SAU d'environ 59.6 %). Les apports d'engrais peuvent ainsi être estimés à environ  $900 \cdot 10^6 \text{ kgN an}^{-1}$ , essentiellement sous forme inorganique (75%), car l'élevage est restreint aux zones périphériques du bassin. On peut donc à ce stade proposer une gamme de valeurs des émissions directes de  $N_2O$  par les sols agricoles de  $1800\text{--}3600 \cdot 10^3 \text{ kgN-N}_2\text{O an}^{-1}$  (0.2–0.4% of  $900 \cdot 10^6 \text{ kgN an}^{-1}$ ) dans le bassin de la Seine.

Au total, les estimations "indirectes" par le réseau hydrographique représentent un flux annuel of  $135\text{--}250 \cdot 10^3 \text{ kgN-N}_2\text{O an}^{-1}$ , i.e. environ 4–14 % des estimations "directes" par les sols agricoles.

L'accord trouvé entre les simulations par le modèle et les mesures des variables intervenant dans le processus de nitrification montre qu'un pas supplémentaire a été franchi concernant la compréhension du processus.

Nous avons montré que la seule mise en place de la nitrification de l'ammonium en STEP peut améliorer l'oxygénation dans l'estuaire amont. En revanche, 70 % de la dénitrification est nécessaire pour réduire les flux d'azote à la zone côtière.

Comme le gaz  $N_2O$  est très actif dans le réchauffement global et la destruction de la couche d'ozone, des travaux scientifiques sont encore nécessaires. Les mesures destinées à l'amélioration de la qualité des effluents traités STEP vont effectivement réduire les formes inorganiques dissoutes mais risquent d'accroître les émissions de gaz en zones urbaines. En outre, s'il est effectivement reconnu que la dénitrification riparienne peut limiter la pollution nitrique dans les eaux de surfaces et profondes, des mesures basées sur l'aménagement de zones tampons pourraient contribuer à augmenter les émissions de  $N_2O$  (Hanson et al., 1994; Pieterse et al., 2003). Une réduction de l'azote à la source, i.e., changement des pratiques agricoles, doit donc être envisagée.

## 5. Références

- Billen G, Garnier J, Ficht A & Cun C. 2001. Modelling the response of water quality in the Seine Estuary to human activity in its watershed over the last 50 years. *Estuaries*, 24(6):977-993
- Bock E, Schmidt I, Stüven R, Zart D. (1995) Nitrogen loss caused by denitrifying *Nitrosomonas* cells using ammonium or hydrogen as electron donors and nitrite as electron acceptor. *Archives of Microbiology* 163:16-20.
- Bouwman AF, Boumans JM, Batjes NH (2002) Emissions of N<sub>2</sub>O and NO from fertilied fields: Summary of available measurement data. *Global Biogeochem. Cycles*, 16(4): 6/1-6/12
- Brion N. & Billen G. (1998) Une réévaluation de la méthode d'incorporation de <sup>14</sup>HCO<sub>3</sub> pour mesurer la nitrification autotrophe et son application pour estimer les biomasses de bactéries nitrifiantes. *Rev. Sci. Eau* 11, 283-302.
- Brion N., Billen G., Guézennec L. & Ficht A. (2000). Distribution of nitrifying activity in the Seine river (France) from Paris to the estuary. *Estuaries*, 23:669-682.
- Casciotti KL, Ward BB. (2001) Dissimilatory nitrite reductase genes from autotrophic ammonia-oxidizing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:2213-2221.
- Cébron A., Berthe T. & Garnier J. (2003). Nitrification and Nitrifying bacteria in the lower Seine River and estuary. *Applied Envir. Microb.*, 69: 7091-7100
- Cébron A., Coci M., Garnier J. & Laanbroek H.J. (2004). DGGE analysis of the Ammonia Oxidizing Bacterial Community structure in the lower Seine River: impact of the Paris wastewater effluents. *Applied Envir. Microb.*, 70: 6726-6737
- Cébron A., Garnier J. & Billen G. (submitted). Nitrous oxide production and nitrification kinetics by bacteria communities naturally present in river water (the lower Seine, France). *Aquat. Microb. Ecol.*
- Cébron A. Garnier J (submitted). Nitrobacter and Nitrospira genera as representative of the nitrite oxidizing bacteria: detection, quantification and growth along the lower Seine River. *Can. J. microb.*
- Crutzen PJ. (1981) Atmospheric chemical processes of the oxides of nitrogen, including nitrous oxide. In: Delwiche CC. (Ed.) Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide. Wiley, New York, pp 17-44
- Cugier, P., Le Hir, P. (2002) Development of a 3D hydrodynamical model for coastal ecosystem modelling. Application to the plume of the Seine River. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 55, 673-695
- Cugier, P., Ménesguen A., Guillaud, J.F (2004) Three dimensional (3D) ecological modelling of the Bay of Seine (English Channel, France). *J. Sea Res.* (in press).
- Cugier Ph., Billen G. , Guillaud, J.F., Garnier, J. & Ménesguen A. (2005). Modelling the eutrophication of the Seine Bight (France) under historical, present and future riverine nutrient loading. *J. Hydrol.* (In press).
- Garcia-Ruiz R, Pattinson SN, Whitton BA. 1998. Kinetic parameters of denitrification in a river continuum. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:2533-2538.
- Garnier J., Servais P., Billen G., Akopian M. & Brion N. (2001). The oxygen budget in the Seine estuary: balance between photosynthesis and degradation of organic matter. *Estuaries* 24(6) : 964-977.
- Garnier J, Billen G, Berthe T, Martinez A, Pinault S, Desruelle M, Cébron A. (2002) Nitrification de l'ammonium dans la basse Seine: impact de l'anthropisation de Paris à l'estuaire. *Rapport de Synthèse Piren-Seine 1998-2001*, 20p.
- Garnier J., Cébron A. Tallec G., Billen G., Sebilo M. & Martinez A. (submitted a). Nitrous oxide emission in the Seine River estuary (France): comparison with upstream sector of the Seine basin. *Biogeochemistry*.
- Garnier J., Laroche L. & Pinault S. (submitted b). Characterization of the effluents of two large waste water plants of the city of Paris (France): how to comply with the European directive ? *Water Res.*
- Goreau TJ, Kaplan WA, Wofsy SC, McElroy MB, Valois FW, Watson SW. 1980. Production of nitrite and N<sub>2</sub>O by nitrifying bacteria at reduced concentrations of oxygen. *Appl. Environ. Microbiol.* 40:526-532.
- Guerrini M-C, Mouchel J-M, Meybeck M, Penven M J, Hubert G & Muxard T (1998) Le bassin de la Seine : la confrontation du rural et de l'urbain. Chapitre 1. In: *La Seine en son bassin*.

- Fonctionnement écologique d'un système fluvial anthropisé* (Meybeck M., De Marsily G & Fustec F. eds). Elsevier, Paris. p 29-75
- Green P.A., Vörösmarty C.J., Meybeck M., Galloway J.N., Peterson B.J. & Boyer E.W. (2004). Pre-Industrial and Contemporary Fluxes of Nitrogen through Rivers: A Global Assessment Based on Typology. *Biogeochemistry* (in press).
- Hanson G.C., Groffman P.M. & Gold A.J. (1994). Denitrification in riparian wetlands receiving high and low groundwater nitrate inputs. *J. Environ. Qual.* 23: 917-922
- Houghton JT, Meira Filho LG, Callander BA Harris N, Kattenberg A & Maskell K (Eds) (1996) *Climate change 1995. The Science of Published for Intergovernmental panel on climate change*, Cambridge Univ. Press. pp 1-572)
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) (2000) *Special report on Emissions Scenarios*. Cambridge Univ. Press, 599 pp
- Jiang Q-Q, Bakken LR. (1999) Nitrous oxide production and methane oxidation by different ammonia-oxidizing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:2679-2684.
- Khalil K (2003) *Emissions de N<sub>2</sub>O par nitrification et dénitrification à l'échelle de la motte de sol: effet de la structure du sol, de l'aération et des activités microbiennes*. Ph-D Univ. Pierre & Marie Curie, 223 pp
- Kuai L, Verstraete W. (1998). Ammonium removal by the oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification system. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:4500-4506
- Meybeck M, Mouchel J-M, Idlafkih Z, Andréassian V & Thibert S (1998) Transfert d'eau, de matière dissoute et particulaire dans le réseau fluvial. Chapitre 8. In: *La Seine en son bassin. Fonctionnement écologique d'un système fluvial anthropisé* (Meybeck M., De Marsily G & Fustec F. eds). Elsevier, Paris. pp 345-387
- Némery J, Garnier J & Morel C (2004) Phosphorus budget in the Marne watershed (France): urban vs. diffuse sources, dissolved vs. particulate forms. *Biogeochemistry* (in press)
- Pitersen N.M., Bleuten W. & Jorgensen S.E. (2003). Contribution of point sources and diffuse sources to nitrogen and phosphorus loads in lowland river tributaries. *J. Hydrol.* 271: 213-225.
- Prosser J.I. (1989). Autotrophic nitrification in bacteria. *Adv. Micro. Physiol.* 30:125-181.
- Romana LA, Thouvenin B, Sammari C. (1992) *Modèle mathématique sur la nitrification et le cycle de l'oxygène dissous en estuaire de la Seine*. Rapport DEL/CCM, AESN, IFREMER, Direction de l'environnement littoral et de l'aménagement, Laboratoire chimie des contaminants et modélisation.
- Sanchez N. (1997). *Le processus de dénitrification dans les sédiments du barrage-réservoir de la Marne: étude de sa cinétique et modélisation*. Thèse Univ. P&M. Curie. 140 pp.
- Sébilo M (2003) *Utilisation du traçage isotopique naturel pour caractériser et quantifier les processus de nitrification et dénitrification à l'échelle du réseau hydrographique de la Seine*. Thèse Doct. Univ. Paris 6, 124pp
- Seitzinger S.P. & Kroeze C. (1998). Global distribution of nitrous oxide production and N inputs in freshwater and coastal ecosystems. *Global Biochem. Cycles*, 12: 93-113
- Talleg G., Garnier J., Billen G. & Gossailles M. (submitted). *Oxide nitrous emissions from nitrifying activated sludge of urban wastewater treatment plant, under different oxygen conditions*. *Water Res.*
- Trogler WC. (1999) Physical properties and mechanisms of formation of nitrous oxide. *Coord. Chem. Rev.* 187:303-327.
- Walling DE & Webb W (1985) Estimating the discharge of contaminants to coastal waters by rivers: some cautionary comments. *Mar. Poll. Bull.* 16: 488-492