

Université de Liège

Faculté des Sciences

Département d'Astrophysique, Géophysique et Océanographie

Unité d'Océanographie chimique



Contribution à la description du cycle de l'azote au sein des eaux superficielles du lac Kivu (Afrique de l'Est)



Roland Fleur

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie des Organismes et Ecologie

Promoteur : François Darchambeau

Année académique 2011-2012

Remerciements

Je remercie tout particulièrement mon promoteur François Darchambeau pour son encadrement tout au long de la réalisation de ce travail. Ce mémoire n'aurait pu être possible sans sa disponibilité et ses nombreux conseils.

Je remercie Alberto Vieira Borges de m'avoir accueillie dans son unité d'Océanographie chimique et de m'avoir ainsi permis de vivre une expérience qui restera, j'en suis sûre, une des plus intéressantes de ma vie.

Un grand merci à Sean Crowe pour son investissement dans ce mémoire et pour l'incroyable patience dont il a fait preuve lors de mon voyage au Danemark.

Je remercie également Cédric Morana de m'avoir encadrée lors de mes analyses à la KULeuven et de s'être rendu disponible pour répondre à mes questions.

Je tiens également à remercier tous les autres membres de la « Team Kivu » pour avoir partagé avec nous toutes leurs connaissances et pour avoir fait de chaque instant un moment inoubliable. Le voyage n'aurait pas été le même sans eux.

Je remercie Don Canfield, Steven Bouillon et Jean-Pierre Thomé pour avoir mis à ma disposition le matériel de leurs laboratoires respectifs.

Un grand merci également à tous les membres de l'Unité d'Océanographie chimique de l'ULg pour leurs nombreux conseils et la sympathie dont ils ont fait preuve.

Je remercie la Politique scientifique fédérale belge pour le financement du projet East African Great Lake Ecosystem Sensitivity to Changes (Promoteur Jean-Pierre Descy, FUNDP) dans lequel s'inscrit ce mémoire, ainsi que le FRS-FNRS pour le financement du projet FRFC Microbial Ecology of Lake Kivu.

Merci aux lecteurs et membres de mon Jury d'avoir pris le temps de lire ce travail.

Enfin, je remercie toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Résumé

Le lac Kivu, situé à la frontière entre le Rwanda et la République Démocratique du Congo, fait partie des grands lacs du rift est-africain. D'origine volcanique, il s'agit d'un lac oligotrophe caractérisé par des eaux profondes anoxiques riches en gaz dissous (méthane et dioxyde de carbone) et en nutriments, et par des eaux superficielles bien oxygénées et appauvries en nutriments. Si le cycle du carbone au sein du lac a fait l'objet de nombreuses études, le cycle de l'azote reste largement méconnu. En particulier, les sources et les pertes pélagiques d'azote réactif n'ont jamais été quantifiées. Ainsi, notre travail visait en particulier à identifier et quantifier les processus de pertes d'azote par dénitrification et/ou anammox, et à quantifier la fixation biologique d'azote atmosphérique. Lors d'une campagne d'échantillonnage menée en février 2012, des expériences de marquage isotopique ont permis de quantifier le long de profils verticaux les taux de dénitrification et d'anammox à deux stations pélagiques du lac ainsi que dans la baie de Kabuno. Aucun processus anammox n'a pu être observé. La dénitrification hétérotrophe avait lieu sous l'interface oxique-anoxique, dans le bas de la nitracline, à des profondeurs comprises entre 50 et 70 m. Le taux de dénitrification moyen a été estimé à $115 \mu\text{moles N m}^{-2} \text{ j}^{-1}$. La dénitrification ne semblait cependant pas être le seul processus consommateur de nitrates dans la nitracline, la réduction dissimilative des nitrates en ammonium pouvant jouer un rôle complémentaire. Parallèlement, le taux de fixation biologique d'azote atmosphérique, estimé à une seule station pélagique, était de $832 \mu\text{moles N m}^{-2} \text{ j}^{-1}$. Des marquages isotopiques accompagnés d'ajout de sulfides au niveau du grand lac et de fer au niveau de la baie de Kabuno ont permis, pour la première fois au niveau d'un grand lac tropical, de mettre en évidence des couplages entre les cycles de l'azote et du soufre et, de manière tout à fait originale, entre les cycles de l'azote et du fer. L'oxydation anaérobie du méthane par les nitrates, par contre, n'a pas pu être mise en évidence et nos résultats suggèrent plutôt la présence d'une oxydation du méthane par les sulfates. Enfin, l'inhibition de l'activité des bactéries sulfato-réductrices a permis de mettre en évidence l'existence d'un processus potentiel de nitrification anaérobie au niveau du grand lac.

Abstract

Lake Kivu, located at the border between Rwanda and the Democratic Republic of Congo, is one of the great lakes of the East African Rift. With a volcanic origin, Lake Kivu is an oligotrophic lake characterized by anoxic deep waters rich in dissolved gases (methane and carbon dioxide) and nutrients, and by well oxygenated and nutrient-depleted surface waters. If the carbon cycle in the lake has been the subject of numerous studies, the nitrogen cycle remains largely unknown. In particular, pelagic sources and losses of reactive nitrogen have not yet been quantified. Thus, our work was aimed in particular to identify and quantify the processes of nitrogen losses by denitrification and/or anammox, and to quantify the biological fixation of atmospheric nitrogen. During a sampling campaign conducted in February 2012, isotopic labeling experiments were used to quantify denitrification and anammox rates along vertical profiles at two pelagic stations of the main lake and into the bay of Kabuno. No anammox process were observed. The heterotrophic denitrification took place under the oxic-anoxic interface in the bottom of the nitracline at depths between 50 and 70 m. The average denitrification rate was estimated at $115 \mu\text{moles N m}^{-2} \text{d}^{-1}$. Denitrification was not the only nitrate-consuming process and dissimilative nitrate reduction to ammonium might be an important process in the nitracline of Lake Kivu. Meanwhile, the rate of biological fixation of atmospheric nitrogen, estimated at one pelagic station, was estimated to $832 \mu\text{moles N m}^{-2} \text{d}^{-1}$. Isotopic labeling accompanied by addition of sulfides in the main lake and iron in the bay of Kabuno allowed, for the first time in a tropical great lake, to highlight important linkages between nitrogen and sulfur cycles, and, by an unique way, between nitrogen and iron cycles. On the other side, the anaerobic methane oxidation by nitrate was not observed and results rather suggest the presence of methane oxidation by sulfate. Finally, inhibition of the activity of sulfate-reducing bacteria has allowed to observe potential anaerobic nitrification in the main lake.

Table des matières

Introduction générale	1
Introduction	2
1. LACS TEMPÉRÉS VS LACS TROPICAUX.....	2
1.1 La température	2
1.2 Importance pour la dénitrification	3
2. LE CYCLE DE L'AZOTE	4
2.1 La dénitrification hétérotrophe	4
2.2 L'oxydation anaérobique de l'ammonium.....	5
2.3 La nitrification.....	6
2.4 La réduction dissimilative du nitrate vers l'ammonium	7
2.5 La fixation de l'azote atmosphérique	8
3. COUPLAGE ENTRE LES CYCLES BIOGÉOCHIMIQUES	9
3.1 Introduction : la méthanogenèse et l'oxydation aérobie du méthane	9
3.2 Couplage entre le cycle du carbone et le cycle du soufre : l'oxydation anaérobique du méthane couplée à la réduction des sulfates.....	10
3.3 Couplage entre le cycle du carbone et le cycle de l'azote : l'oxydation anaérobique du méthane par les nitrates.....	11
3.4 Couplage entre le cycle de l'azote et le cycle du soufre : l'oxydation des sulfures par les nitrates.....	12
4. LES GRANDS LACS TROPICAUX.....	13
4.1 L'ensemble des grands lacs du rift est-africain.....	13
4.2 Le lac Kivu	13
4.2.1 <i>Présentation générale du système étudié</i>	13
4.2.2 <i>Processus biogéochimiques supposés sur base des profils des substances chimiques</i>	15
5. OBJECTIFS.....	17
Matériel et méthodes	18
1. MÉTHODOLOGIE SUR LE TERRAIN	18
1.1 Sites d'échantillonnage.....	18
1.2 Mesure des paramètres physico-chimiques et prélèvements	18
1.3 Détermination des profils verticaux en nutriments, en chlorophylle <i>a</i> , en H ₂ S et SO ₄ ²⁻	18
1.4 Traitements appliqués aux échantillons.....	19
1.4.1 <i>Mesure de l'oxydation du CH₄, de la production de N₂O et de l'évolution des concentrations en nutriments azotés</i>	19
1.4.2 <i>Mesure de la dénitrification</i>	19

1.4.3	Mesure de la fixation de l'azote atmosphérique.....	21
2.	MÉTHODOLOGIE EN LABORATOIRE.....	21
2.1	Mesure des concentrations en N ₂ O et CH ₄	21
2.2	Mesure de la fixation de l'azote atmosphérique et détermination des taux.....	22
2.3	Mesures des concentrations en nutriments azotés	22
2.3.1	Echantillons issus des « headspaces »	22
2.3.2	Echantillons issus des profils verticaux et des marquages isotopiques.....	23
2.4	Mesure des taux de dénitrification.....	23
2.5	Mesure des taux de dégazage du N ₂ O.....	24
2.6	Mesure des concentrations en chlorophylle <i>a</i>	24
2.7	Mesure des concentrations en H ₂ S et SO ₄ ²⁻	24
	Résultats	25
1.	PROFILS PHYSICO-CHIMIQUES ET PROFILS VERTICAUX EN CH ₄ , N ₂ O, NO _x , CHLOROPHYLLE A, H ₂ S ET SO ₄ ²⁻	25
2.	MESURES DE L'OXYDATION DU CH ₄ ET DE LA DÉNITRIFICATION	26
2.1	Ishungu.....	26
2.2	Gisenyi.....	29
2.3	Kabuno	32
3.	CONTRÔLES ENVIRONNEMENTAUX DE LA DÉNITRIFICATION.....	33
4.	FIXATION DE L'AZOTE ATMOSPHÉRIQUE	33
	Discussion	35
1.	CONTEXTE DE L'ÉTUDE	35
2.	LA DÉNITRIFICATION AU LAC KIVU	37
3.	LE COUPLAGE AVEC L'OXYDATION DU CH ₄	40
4.	POURQUOI L'ANAMMOX EST-ELLE ABSENTE ?.....	41
5.	LA NITRIFICATION ANAÉROBIQUE EST-ELLE PRÉSENTE ?	42
6.	LA BALANCE EN N	44
	Conclusions et perspectives	46
	Bibliographie	
	Annexes	

Introduction générale

La région de la vallée du rift est-africain contient le plus grand rassemblement de grands lacs tropicaux du monde. Ainsi, très naturellement, les lacs Tanganyika, Malawi et Victoria, en particulier, font l'objet de nombreuses études visant par exemple à recenser la grande biodiversité qu'ils contiennent ou à comprendre leur fonctionnement biogéochimique et écologique.

Le lac Kivu est l'un de ces grands lacs. Etant données les quantités très importantes de méthane que ses eaux profondes contiennent, le cycle du carbone a attiré l'attention de nombreux chercheurs, afin notamment de pouvoir y développer une industrie d'extraction du méthane qui pourrait alimenter la région en électricité mais aussi afin de prévenir un éventuel dégazage naturel de ce gaz, lequel serait une véritable catastrophe pour les 2 millions de personnes vivant à proximité immédiate du lac.

Comparativement, le cycle de l'azote de tous ces systèmes a été très peu étudié. Il en est de même pour le lac Kivu. Pourtant, l'azote est souvent un des facteurs limitant la production phytoplanctonique de ces systèmes. Pour certains d'entre eux, la présence d'eaux profondes anoxiques en contact avec des eaux de surface oxiques devrait permettre le développement de communautés microbiennes complexes liées au cycle de l'azote dans la colonne d'eau pélagique. En particulier, des processus clés du cycle de l'azote, tels que la nitrification, la dénitrification hétérotrophe, la réduction dissimilative du nitrate vers l'ammonium et l'oxydation anaérobie de l'ammonium, n'ont que très peu été quantifiés dans ces grands lacs tropicaux, et jamais pour le lac Kivu.

Il s'avère donc extrêmement intéressant d'étudier le cycle de l'azote au niveau du lac Kivu au vu du peu d'informations que l'on possède à ce niveau. Il s'agira donc du sujet principal de ce mémoire. En particulier, nous essayerons de comprendre si et comment le cycle de l'azote au lac Kivu peut être couplé à d'autres cycles biogéochimiques importants, comme le cycle du carbone et celui du soufre.

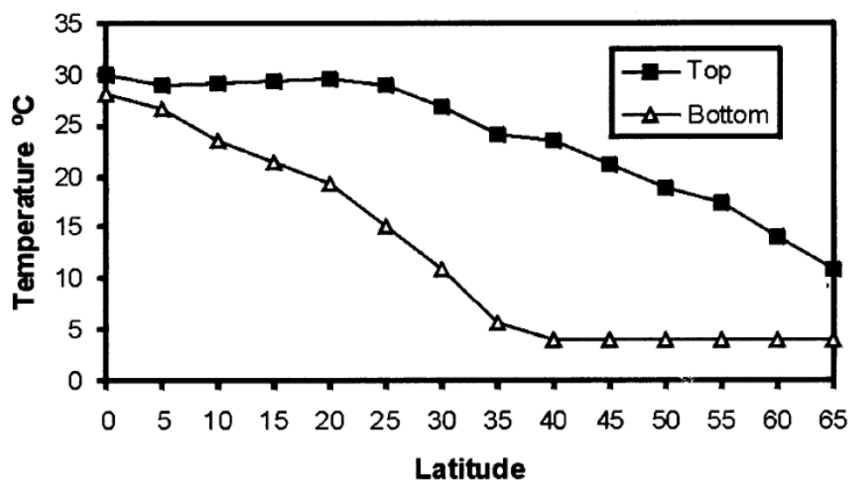


Figure 1 : Températures caractéristiques des eaux profondes et superficielles pour des lacs stratifiés, à différentes latitudes. (Lewis 2002)

Introduction

1.

Lacs tempérés vs lacs tropicaux

1.1 La température

Les lacs tropicaux présentent en général des caractéristiques communes aux lacs tempérés. Toutefois, l'influence tropicale, qui se traduit essentiellement par des températures de l'eau plus élevées, va apparaître dans toute une série de processus physiques, chimiques et biologiques importants dans le fonctionnement des écosystèmes. C'est ainsi qu'une température plus élevée va influencer notamment la stratification physique des colonnes d'eau, les concentrations en oxygène dissous et les taux et rendements des processus biologiques (Lewis 1987). On estime qu'au niveau de la mer, la température avoisine les 24-28°C en profondeur et 25-30°C à la surface pour les lacs tropicaux (Figure 1), ce qui correspond à un optimum de température pour la photosynthèse (Lewis 1987, Lewis 2002, Lewis 2010).

La température va donc influencer la stratification des lacs. Un lac stratifié thermiquement est divisé en trois zones distinctes : l'épilimnion à la surface (également nommée « couche de mélange »), l'hypolimnion en profondeur et le métalimnion, ou thermocline, entre les deux précédentes. Ces couches sont maintenues par un gradient de densité engendré par le gradient de température. En milieu tropical, la différence de température entre le fond d'un lac et la surface est moindre qu'au niveau des lacs tempérés, ce qui a pour conséquence que la stratification est plus encline à subir des variations que celle d'un lac de hautes latitudes (Lewis 1987). En d'autres termes, la moindre variation dans la quantité de chaleur reçue a des conséquences plus importantes au niveau des lacs tropicaux (Lewis 2010). De ce fait, l'épaisseur de l'épilimnion d'un lac tropical varie de manière journalière, tandis qu'elle reste presque constante tout au long de la saison chaude au niveau des lacs tempérés (seuls les mélanges saisonniers engendrent des modifications) (Lewis 1987). D'un point de vue annuel, une seule saison influence la stratification des lacs dans les régions tropicales : la saison sèche. En effet, au cours de cette saison, l'évaporation et les vents sont accentués, ce qui refroidit l'épilimnion, diminuant ainsi le gradient de densité et permettant le mélange des eaux superficielles et des eaux profondes. On observe ainsi un seul mélange par an ; il s'agit de lacs monomictiques (Pourriot et Meybeck 1995, Sigeo 2005). La stratification des lacs tropicaux dure ainsi plus longtemps (9-10 mois) que celle observée au niveau des lacs tempérés (5-6 mois) (Lewis 1987, Lewis 2002).

L'épaisseur de la couche de mélange (qui est donc influencée par la température) va influencer la production primaire (Lewis 1987). En général, une couche de mélange plus fine a une

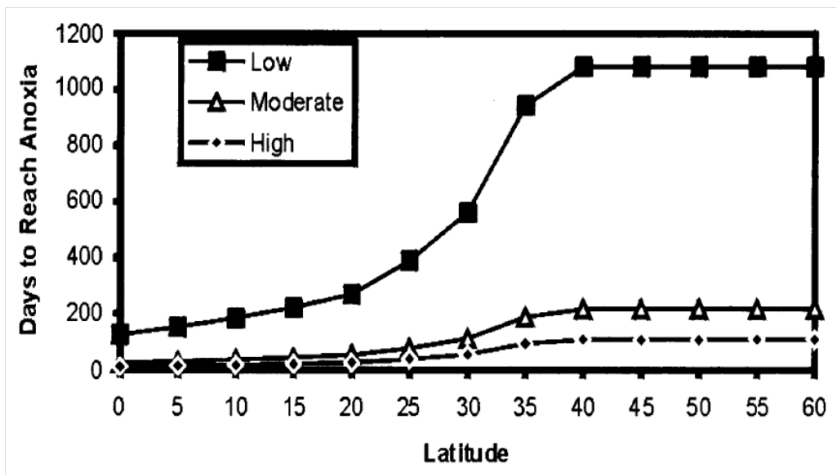


Figure 2 : Nombre de jours requis pour que l'hypolimnion d'un lac stratifié devienne complètement anoxique à différentes latitudes, sous trois niveaux de demande en oxygène durant la respiration (low : $100 \text{ mg O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$; moderate : $300 \text{ mg O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$; high : $1000 \text{ mg O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$) (Lewis 2002).

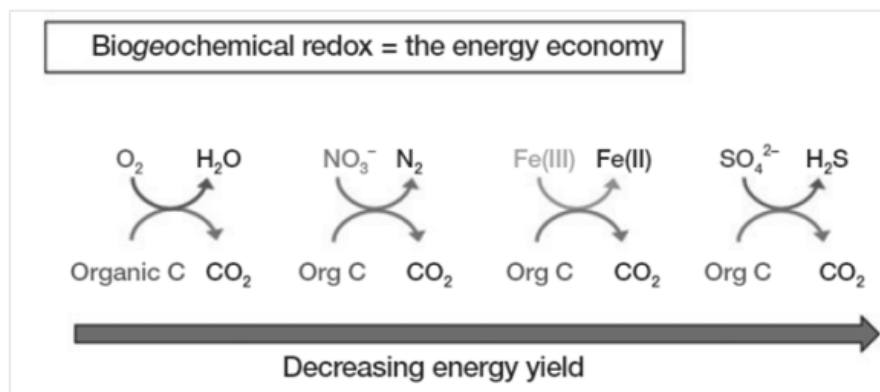


Figure 3 : Diminution du rendement énergétique des différents accepteurs terminaux d'électrons (Burgin et al. 2011).

plus grande production primaire nette car la biomasse y est plus concentrée (Lewis 1987). La production primaire est également déterminée par la disponibilité en nutriments ; le recyclage des nutriments est donc primordial. En milieu tropical, ce recyclage est plus efficace car la température y étant plus élevée, la dégradation de la matière organique morte y est plus efficace. De plus, il y a un meilleur retour des nutriments à partir des profondeurs, étant donné que la couche de mélange subit des plus grandes variations d'épaisseur (Lewis 1987, Sigee 2005). En effet, lors de l'épaississement de la couche de mélange, celle-ci va pénétrer l'hypolimnion, permettant ainsi un retour des nutriments dans les eaux superficielles. En milieu tempéré, les nutriments ayant sédimenté dans l'hypolimnion ne sont retournés à la surface que lors des mélanges complets saisonniers. En conclusion, la production primaire est plus élevée au niveau des lacs tropicaux qu'au niveau des lacs tempérés ; on estime en effet qu'elle est 2 à 4 fois supérieure à celle des lacs tempérés pour une même disponibilité en nutriments (Sigee 2005, Lewis 2010).

La température influence également de façon très importante la disponibilité en oxygène dans l'eau. Plus la température est élevée, moins il y a d'oxygène dissous dans l'eau à saturation. De ce fait, en milieu tropical, la quantité d'oxygène contenue dans les profondeurs au début de la stratification sera moindre qu'au niveau des lacs tempérés (Lewis 1987). Pendant la stratification, tous les lacs, indépendamment de la latitude, subissent une désoxygénation de l'hypolimnion. En milieu tropical, étant donné que les quantités d'oxygène initiales sont moindres, on observera ainsi un appauvrissement en oxygène plus rapide et plus intense (Lewis 1987). En effet, on estime que l'hypolimnion d'un lac tropical deviendra anoxique 5 à 10 fois plus rapidement qu'un lac tempéré (Figure 2) (Lewis 2010). Ce phénomène est amplifié par trois facteurs : la période de stratification est plus longue aux basses latitudes, le mélange saisonnier est moins fort et la production primaire est plus élevée (Lewis 1987, Sigee 2005). Du fait de cette désoxygénation de l'hypolimnion, les processus biogéochimiques ayant lieu au sein des profondeurs des lacs tropicaux sont la majorité du temps anoxiques, tandis qu'ils peuvent être oxygènes ou anoxiques au sein des lacs tempérés (Lewis 2010). De ce fait, des accepteurs d'électrons autres que l'oxygène sont utilisés, tels que les nitrates (NO_3^-), le fer oxydé (Fe^{3+}), le manganèse (Mn), les sulfates (SO_4^{2-}) ou la matière organique, les NO_3^- étant les accepteurs d'électrons, après l'oxygène, les plus efficaces et la matière organique la moins efficace (Figure 3) (Lewis 2010).

1.2 Importance pour la dénitrification

Les lacs tropicaux auront donc tendance à développer un hypolimnion anoxique et riche en nutriments (Sigee 2005). Dans les lacs, la dénitrification est plus élevée dans les sédiments car des bactéries dénitrifiantes anaérobiques facultatives y trouvent des conditions propices à leur développement (McCrackin et Elser 2010). L'anoxie de l'hypolimnion dans les lacs tropicaux permet également un développement important de ces bactéries, ce qui favorise la dénitrification. Lewis (2002) a montré cette tendance à une plus grande dénitrification au sein des lacs tropicaux suite aux facteurs décrits précédemment (à savoir une période de stratification plus longue, des taux métaboliques plus élevés et une désoxygénation plus rapidement atteinte). Ces facteurs vont en effet favoriser le développement d'une anoxie dans l'hypolimnion (Figure 2).

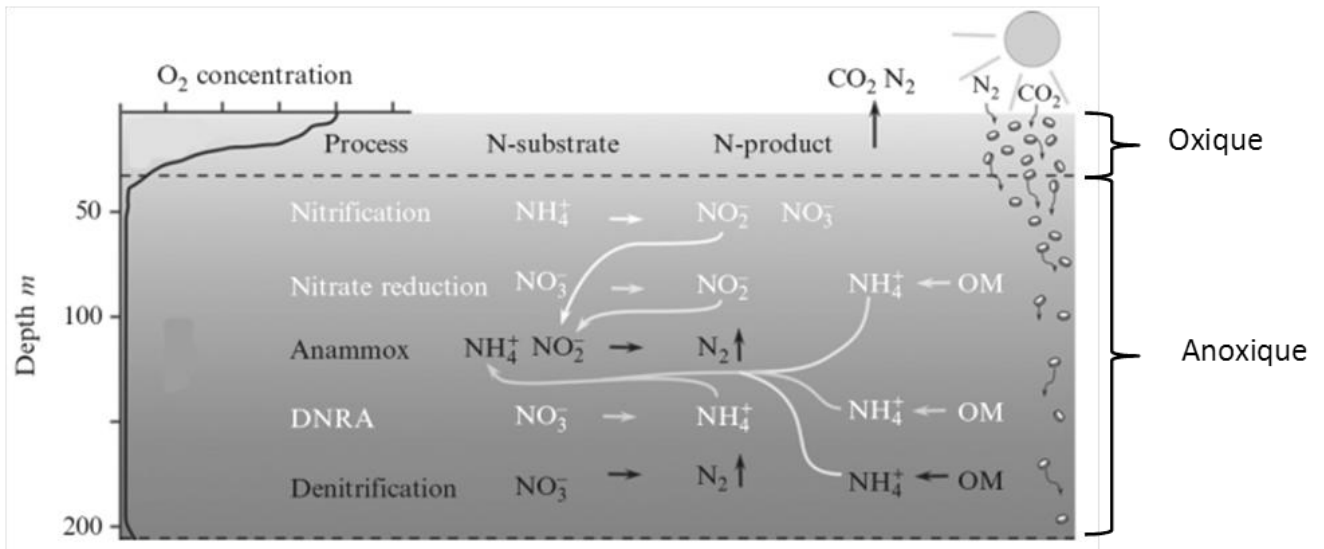
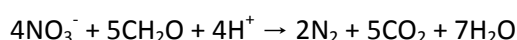


Figure 4 : Représentation schématique du cycle de l'azote dans les milieux aquatiques et liens entre les différents processus. Anammox : Oxydation anaérobie de l'ammonium, DNRA : Réduction dissimilative du nitrate en ammonium, OM : matière organique. Modifié d'après Holtappels et al. (2011).

Les paragraphes suivants introduisent les processus principaux du cycle de l'azote (N), à savoir la dénitrification hétérotrophe, l'oxydation anaérobique de l'ammonium (NH_4^+), la réduction dissimilative du NO_3^- vers NH_4^+ , la nitrification et la fixation de l'N atmosphérique (N_2). Bien qu'ils seront vus sous forme de sections, il ne faut pas perdre de vue qu'ils font partie d'un cycle, ce qui signifie qu'ils sont liés (Figure 4). En effet, nous verrons par exemple que la nitrification conduit à la production de NO_3^- , lesquels pourront servir ensuite de substrat pour la dénitrification hétérotrophe et l'anammox.

2.1 La dénitrification hétérotrophe

La dénitrification hétérotrophe, ou respiration anaérobique des NO_3^- , est une oxydation microbienne dans laquelle la matière organique est utilisée comme donneur d'électrons et les NO_3^- ou les nitrites (NO_2^-) sont utilisés comme accepteurs d'électrons, son produit final étant l' N_2 (Pourriot et Meybeck 1995, Sigeo 2005). Trois conditions doivent être remplies pour que la dénitrification hétérotrophe ait lieu (Seitzinger et al. 2006) : la concentration en oxygène dissous doit être inférieure à 0,2 mg O_2/L ($\pm 6 \mu\text{M}$), des NO_3^- ou NO_2^- doivent être disponibles (il s'agit de l'élément limitant principal ; Kirchman et al. 2008) et la matière organique doit être disponible en quantité suffisante. Elle a lieu en quatre étapes (Wallenstein et al. 2006) : 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 . Cette dernière étape a un rôle très important car elle transforme un gaz à effet de serre (N_2O) en un gaz relativement inoffensif dans l'atmosphère (N_2) (Wallenstein et al. 2006). Toutefois, en présence de faibles quantités d'oxygène, elle est inhibée et conduit à la libération de N_2O dans l'atmosphère (vanLoon et Duffy 2011). La réaction globale de la dénitrification est la suivante (vanLoon et Duffy 2011) :



La matière organique n'est pas l'unique donneur d'électrons possible ; la dénitrification peut également avoir lieu en utilisant notamment l'hydrogène (H_2), le thiosulfate ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), le fer ferreux (Fe^{2+}), le monoxyde de carbone (CO) ou le méthane (CH_4) (Kirchman et al. 2008).

Les bactéries responsables de la dénitrification hétérotrophe sont ubiquistes, ce qui a pour conséquence la présence de cette réaction dans tous les milieux (sols, nappes aquifères, sédiments marins et d'eau douce, estuaires, « Oxygen Minimum Zones » marines (OMZ), etc. ; Seitzinger et al. 2006). Dans les lacs, elle est réalisée par des bactéries anaérobies facultatives telles que *Pseudomonas*, par des bactéries aérobies facultatives telles que *Bacillus*, *Micrococcus*, *Achromobacter* ou même par des champignons (Pourriot et Meybeck 1995, Sigeo 2005).

Les taux de dénitrification actuels ont été estimés par équilibre des masses à l'échelle régionale pour différents écosystèmes (Galloway et al. 2004, Seitzinger et al. 2006, Gruber et Galloway 2008) : pour les écosystèmes continentaux (sols, terres agricoles, eaux souterraines, rivières et lacs), le taux de dénitrification total a été estimé à environ 300 Tg N/an, dont 30 Tg N/an dénotant une perturbation anthropique. Pour les écosystèmes marins, le taux de dénitrification total a également été estimé à 300 Tg N/an, ce qui implique une dénitrification globale de 600 Tg N/an (Galloway et al. 2004). Les systèmes d'eau douce interviennent à eux seuls pour 20% dans cette dénitrification globale, soit pour 120 Tg N/an (Galloway et al. 2004). Il faut cependant noter que ces chiffres sont pour la plupart estimés avec une incertitude proche de 50 % (Gruber et Galloway 2008). L'augmentation anthropique de l'apport en N a pour conséquence une augmentation du taux de dénitrification¹ (McCrackin et Elser 2010). Toutefois, la dénitrification a comme produits intermédiaires le N₂O et le NO, des gaz nocifs une fois présents dans l'atmosphère (Sigee 2005). En temps normal, ces gaz sont très peu produits mais une augmentation du taux de dénitrification aura pour conséquence une augmentation de leur production (Seitzinger et al. 2006, McCrackin et Elser 2010). En effet, au niveau des écosystèmes terrestres par exemple, la production naturelle de N₂O est de 8 Tg N/an, à laquelle se rajoute, suite aux perturbations anthropiques, 4 Tg N/an (Gruber et Galloway 2008).

La dénitrification hétérotrophe conduit donc à la formation d'N₂ à partir de NO₃⁻. Il s'agit donc d'un processus de perte d'N réactif pour les écosystèmes (Lam et al. 2007, Zehr 2009). Il ne s'agit toutefois pas de l'unique source d'N pour l'atmosphère. Un autre processus important conduit également à la formation de ce même produit final : l'oxydation anaérobique de l'NH₄⁺ ou anammox.

2.2 L'oxydation anaérobique de l'ammonium

L'existence potentielle de l'anammox avait été prédite par Broda il y a environ 30 ans (Broda 1977). Il a fallu toutefois attendre le début des années 1990 pour découvrir l'existence de ce processus au niveau d'un système de traitement des eaux usées au Pays-Bas (Van de Graaf et al. 1990, Mulder et al. 1995). De nombreuses études ont ensuite été menées afin de découvrir ce processus dans les milieux naturels. En 2002, Thamdrup et Dalsgaard ont été les premiers à publier une étude mettant en évidence ce processus dans les sédiments marins. L'anammox a ensuite été mise en évidence dans de nombreux écosystèmes, tels que le Golfo Dulce au Costa Rica (Dalsgaard et al. 2003), la mer Noire (Kuypers et al. 2003), les OMZ du système d'upwelling du Benguela (Namibie) (Kuypers et al. 2005), du Chili (Thamdrup et al. 2006) et du Pérou (Hamersley et al. 2007), le lac Tanganyika en Afrique (Schubert et al. 2006b), le lac Rassnitzer en Allemagne (Hamersley et al. 2009).

L'anammox est une dénitrification autotrophe produisant de l'N gazeux N₂ et ayant pour intermédiaires les produits toxiques hydroxylamine (NH₂OH) et hydrazine (N₂H₄) (Hulth et al. 2005, Kirchman et al. 2008). Elle a lieu selon la réaction suivante (Kirchman et al. 2008), au cours de

¹ Les écosystèmes subissent une grande influence anthropique. Il y a en effet accélération du cycle de l'N par les hommes, ce qui peut notamment conduire, à terme, à une eutrophisation et une acidification des milieux aquatiques (Howarth et al. 2011). On reconnaît deux sources principales d'N anthropogénique : l'agriculture (via la fertilisation) et la combustion des énergies fossiles (production de NO_x) (Seitzinger et al. 2006).

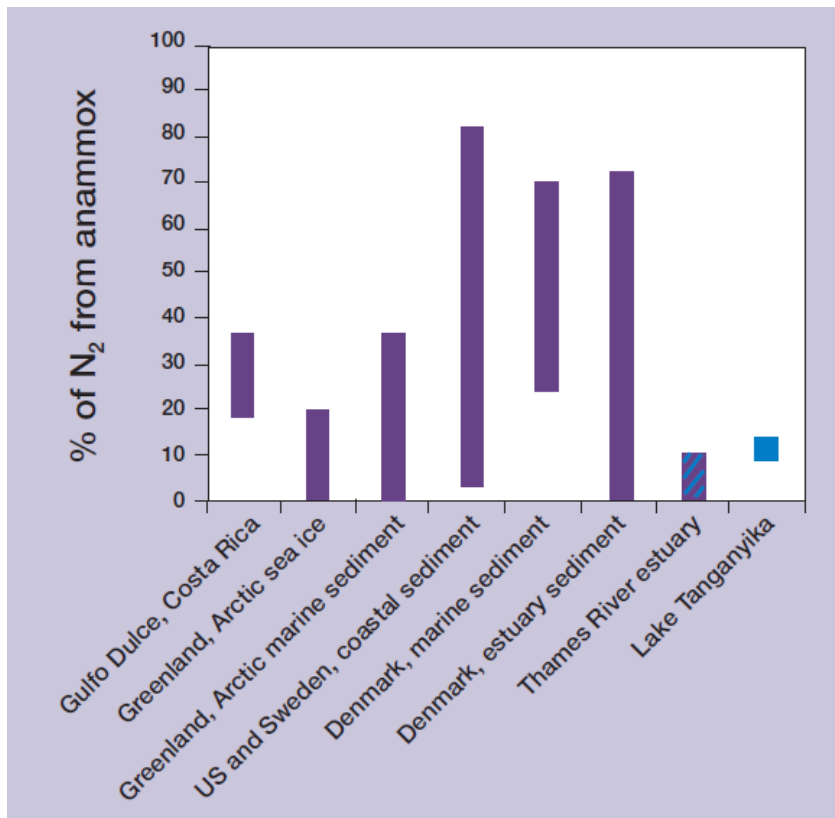
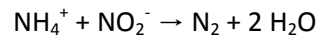


Figure 5 : Contribution de l'anammox dans la production de N₂ dans différents milieux. Les barres mauves sont des milieux marins, les barres bleues sont des milieux d'eau douce. L'estuaire de la rivière Thames est hachuré parce que l'étude a été menée au niveau de sites influencés par les deux milieux (Burgin et Hamilton 2007).

laquelle le NO_2^- (ou le NO_3^-) sert d'accepteur d'électrons, tandis que le NH_4^+ sert de donneur d'électrons (Jetten et al. 1998):



Les Eubactéries réalisant ce processus font partie de l'ordre des Planctomycètes (5 genres sont actuellement connus ; Strous et al. 1999, Schmid et al. 2000, Kuenen et Jetten 2001, Kuypers et al. 2003, Schmid et al. 2003, Kartal et al. 2007). Ces bactéries sont caractérisées par un compartiment particulier (l'anamoxosome) entouré de lipides uniques (les ladderanes) (Lindsay et al. 2001, Sinninghe Damste 2002, Hulth et al. 2005). Comparativement au couplage nitrification/dénitrification hétérotrophe, l'anamox présente comme avantage compétitif qu'elle est autotrophe (Hulth et al. 2005). Par contre, elle présente comme inconvénient un très faible rendement se traduisant par une faible croissance des bactéries la pratiquant (Sinninghe Damste et al. 2002, Jetten et al. 2003).

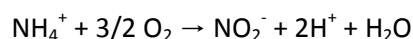
L'importance de l'anamox dans la production de N_2 en milieu marin diffère selon les zones concernées (Figure 5). Ainsi, par exemple, dans le Golfo Dulce, au Costa Rica, elle intervient pour 19 à 35% dans la production du N_2 (Dalsgaard et al. 2003), tandis qu'elle n'intervient que pour 13% au niveau du lac Tanganyika (Schubert et al. 2006b). Dans certains écosystèmes pourtant anoxiques, l'anamox n'est pas présente, comme par exemple dans le bassin anoxique Mariager Fjord, au Danemark (Jensen et al. 2009).

L'anamox et la dénitrification hétérotrophe présentés ci-dessus sont, de manière non exhaustive, des processus de perte d'N réactif par les écosystèmes. Outre des pertes, des processus de transformation des formes de l'N ont également lieu : il s'agit de la nitrification, de la réduction dissimilative du nitrate vers le NH_4^+ (DNRA) et de la fixation de l' N_2 .

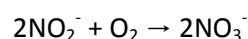
2.3 La nitrification

La nitrification est un processus d'oxydation aérobie, autotrophe, se déroulant en deux étapes : la nitritation et la nitratisation (Pourriot et Meybeck 1995, Sigeo 2005).

La nitritation, réalisée notamment par des Eubactéries des genres *Nitrosomonas* et *Nitrospira* (les plus répandues dans les écosystèmes d'eau douce ; Kirchman et al. 2008), est elle-même divisée en deux étapes. La première étape consiste en l'oxydation de l' NH_4^+ en NH_2OH , tandis que la deuxième étape est la transformation de l' NH_2OH en NO_2^- (Jetten et al. 2009). Notons que, outre l' NH_2OH , le N_2O peut également constituer un intermédiaire de la nitritation (Kirchman et al. 2008). La réaction globale de la nitritation est la suivante (Pourriot et Meybeck 1995) :



La nitratisation, quant à elle, est réalisée par des Eubactéries du genre *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrosococcus* (notons que *Nitrospira* est dominante dans les environnements d'eau douce) (Pourriot et Meybeck 1995, Kirchman et al. 2008). Elle a lieu selon la réaction suivante (vanLoon et Duffy 2011) :



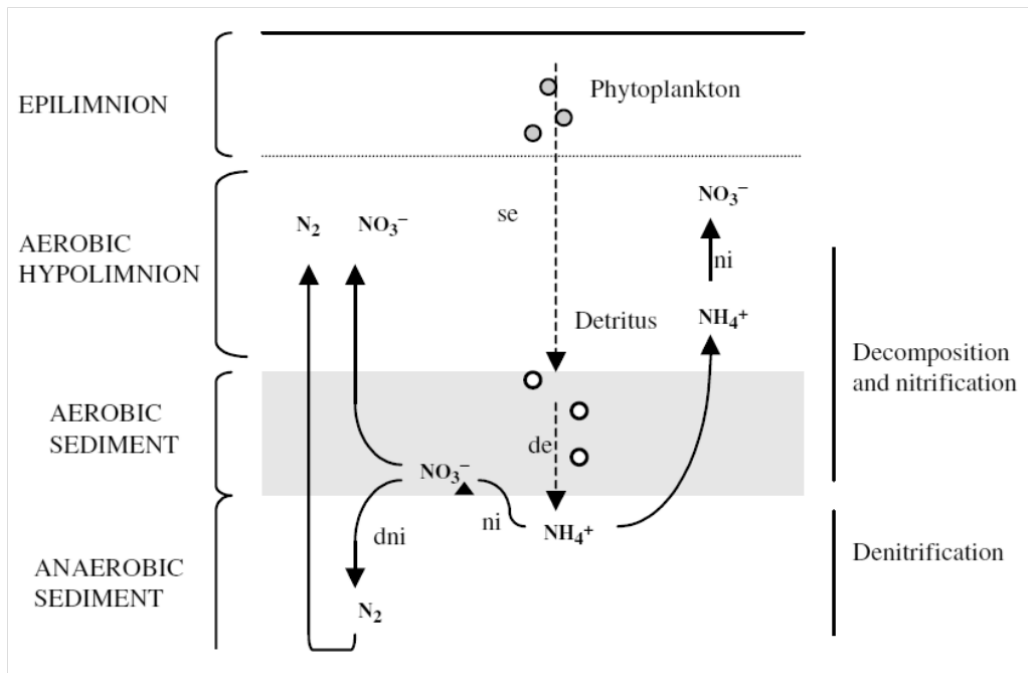


Figure 6 : Rôle des sédiments dans la dénitrification et la nitrification d'un lac oligotrophe. se : sédimentation, de : décomposition, ni : nitrification, dni : dénitrification (Sigeo 2005).

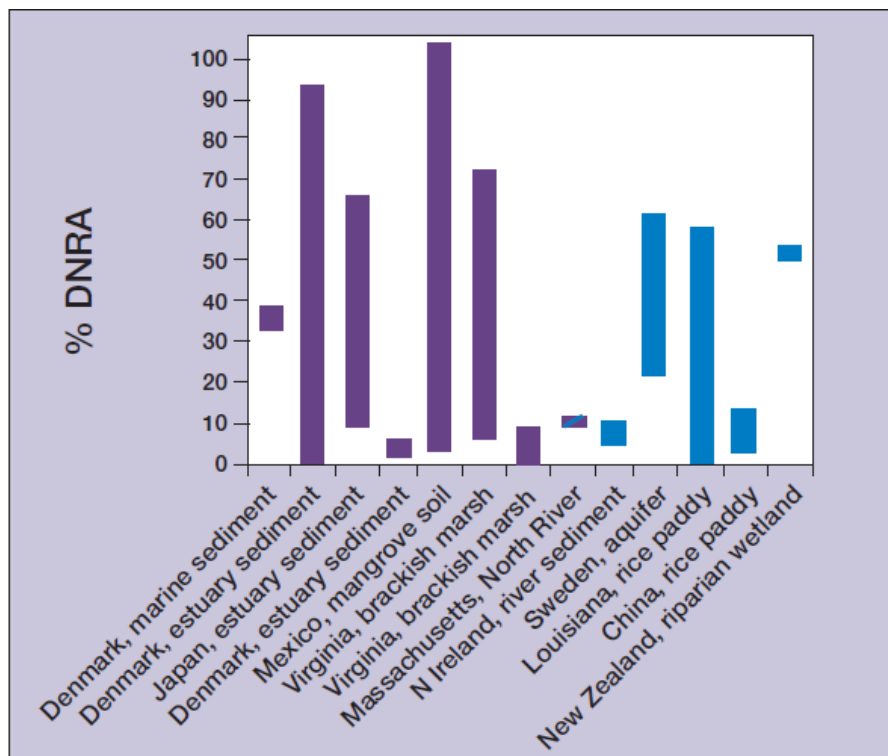
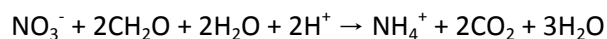


Figure 7 : Pourcentages de DNRA estimés pour différents environnements. Les barres mauves sont des environnements marins, les barres bleues sont des environnements d'eau douce. La North River est alternativement d'eau douce et oligohaline (Burgin et Hamilton 2007).

La nitrification a lieu au sein des eaux oxygénées et dans la couche oxydée des sédiments (Figure 6) (Pourriot et Meybeck 1995). La demande en oxygène lors de la nitrification est très élevée, ce qui peut accélérer la désoxygénation de l'hypolimnion et des sédiments dans les lacs, en particulier dans les lacs tropicaux (Lewis 2002, Sigee 2005). Les NO_3^- produits au cours de ce processus pourront être utilisés par le phytoplancton pour produire de la biomasse (Kuypers et al. 2005, Yool et al. 2007). Notons toutefois que NH_4^+ est la source d'N inorganique primaire, ce qui signifie que les organismes assimileront préférentiellement NH_4^+ avant le NO_3^- (Pourriot et Meybeck 1995, Kirchman et al. 2008). En conséquence, si de NH_4^+ est disponible en grande quantité, les NO_3^- ne seront pas utilisés (Clark et al. 2008) mais ils pourront par contre servir de source importante pour la dénitrification et l'anammox (Lam et al. 2007, McCrackin et Elser 2010). Dans le cas notamment des systèmes méromictiques (stratification permanente), il y a couplage étroit entre la nitrification et la dénitrification hétérotrophe ; la nitrification a lieu au niveau de la zone aérobie, près de l'interface oxique-anoxique, ses produits diffusant dans la zone suboxique où la dénitrification peut avoir lieu (Sigee 2005).

2.4 La réduction dissimilative du nitrate vers l'ammonium

La DNRA, ou fermentation des NO_3^- , est un processus anaérobie hétérotrophe de réduction du NO_3^- (ou NO_2^-) (Devol 2008, Kirchman et al. 2008, vanLoon et Duffy 2011). Elle est réalisée par des anaérobies facultatifs, des réducteurs anaérobiques du fer (Fe), du soufre (S) ou des SO_4^{2-} , ou par des bactéries anammox (Kirchman et al. 2008). Les organismes les plus importants sont *Thioploca* et *Thiomargarita* (Devol 2008). La DNRA a lieu selon la réaction suivante (vanLoon et Duffy 2011), au cours de laquelle la matière organique sert de donneur d'électrons et les NO_3^- servent d'accepteurs d'électrons :

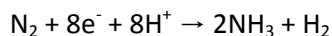


Elle ne produit pas d'intermédiaires libres. Contrairement à la dénitrification hétérotrophe et à l'anammox, elle produit une forme d'azote biologiquement plus disponible (NH_4^+) (Burgin et Hamilton 2007). L' NH_4^+ produit peut en effet être utilisé pour la nitrification ou assimilé dans la biomasse microbienne (Burgin et Hamilton 2007). La DNRA entre en compétition avec la dénitrification hétérotrophe pour les NO_3^- mais chaque réaction a ses propres avantages : la dénitrification hétérotrophe fournit plus d'énergie mais les bactéries réalisant la DNRA sont capables de transférer plus d'électrons par mole de NO_3^- (Burgin et Hamilton 2007, Kirchman et al. 2008). De plus, la DNRA est supposée être favorisée dans les environnements riches en carbone organique et pauvres en NO_3^- , tandis que la dénitrification hétérotrophe est favorisée dans les environnements ayant un faible ratio C/N (Burgin et Hamilton 2007). De ce fait, son importance varie fortement selon le milieu considéré (Figure 7).

Les pertes d'N par les écosystèmes ainsi que les transformations des formes d'N déjà présentes ont ainsi été vues. Toutefois, pour que ces processus aient lieu, l'N doit être présent dans les écosystèmes. A l'échelle globale, le processus principal de gain d'N par les écosystèmes est la fixation de N_2 (Halm et al. 2009).

2.5 La fixation de l'azote atmosphérique

La fixation de l' N_2 est un processus strictement anaérobique qui transforme le N_2 en ammoniacque (NH_3) selon la réaction suivante (Burris et Roberts 1993) :



Cette réaction nécessite un agent réducteur fort (la flavodoxine ou la ferrédoxine), une source d'énergie (l'ATP) et un complexe enzymatique riche en Fe, la nitrogénase (Pourriot et Meybeck 1995). La nitrogénase étant très sensible à l'oxygène, les organismes aérobiques réalisant la fixation biologique de l' N_2 doivent la protéger par divers moyens (Pourriot et Meybeck 1995). Un premier moyen est de séparer spatialement la fixation de l' N_2 et la photosynthèse au moyen de structures particulières, telles que les hétérocystes des cyanobactéries (Burris et Roberts 1993, Sigeo 2005). Un deuxième moyen est de séparer temporellement les deux processus, la photosynthèse étant réalisée pendant la journée et la fixation de l' N_2 pendant la nuit (Sigeo 2005). Etant donné qu'elle nécessite beaucoup d'énergie (Burris et Roberts 1993), la fixation de l' N_2 n'est pas un processus très favorable, c'est pourquoi la synthèse de la nitrogénase est inhibée par la présence d' NH_4^+ et réprimée par la présence de NO_3^- dans l'environnement (Pourriot et Meybeck 1995, Sigeo 2005, Kirchman et al. 2008).

Dans les lacs, la fixation du N_2 est réalisée par des cyanobactéries (telles que *Anabaena* et *Nostoc*, qui ont développé des hétérocystes ou *Synechococcus* qui a développé le système de séparation temporelle), ainsi que par des bactéries anaérobies telles que *Clostridium* ou des bactéries aérobies telles que *Azotobacter* (Pourriot et Meybeck 1995, Sigeo 2005).

Avant l'ère industrielle, les entrées d'N nouvellement synthétisé dans les écosystèmes continentaux (lacs, rivières, sols, etc.) étaient estimées à 125 Tg N/an, dont une grosse partie provenait de la fixation naturelle de l' N_2 (Galloway et al. 2004). En 1990, les sources d'N terrestres équivalaient à 270 Tg N/an, soit plus du double des quantités naturelles, dénotant donc une forte perturbation anthropique (Seitzinger et al. 2006, Gruber et Galloway 2008).

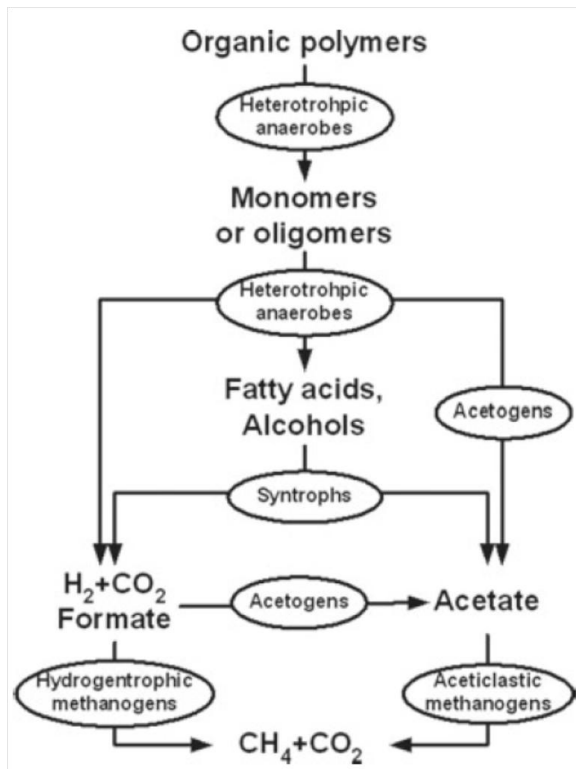


Figure 8 : Conversion anaérobie de la matière organique en méthane (Liu et Whitman 2008).

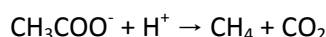
Couplage entre les cycles biogéochimiques

3.1 Introduction : la méthanogenèse et l'oxydation aérobie du méthane

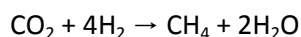
Les sections suivantes s'intéresseront aux cycles couplés, à savoir en particulier au couplage entre le cycle du carbone (C) et de l'N, entre le cycle du C et du S et entre le cycle de l'N et du S.

La majeure partie du CH₄ est produite par méthanogenèse microbienne, processus anaérobie strict correspondant à la dernière étape de la fermentation de la matière organique et ayant lieu au niveau des zones humides, des champs de riz, de l'intestin des animaux, des sols, etc. (Wahlen 1993, Pourriot et Meybeck 1995, Knittel et Boetius 2009). En particulier, au sein des systèmes lacustres, la méthanogenèse a principalement lieu au niveau des sédiments et des hypolimnions anoxiques de lacs stratifiés (Cicerone et Oremland 1988, Jones et Grey 2011). Dans la nature, différents substrats peuvent être utilisés comme donneurs d'électrons pour produire du CH₄ : acétate, formate, H₂-CO₂ et méthanol (Mah et al. 1977). Les deux voies principales sont (Figure 8) :

- 1) La méthanogenèse acétoclastique, produisant le CH₄ à partir d'acétate (Mah et al. 1977, Liu et Whitman 2008). Elle a lieu selon la réaction suivante (Ferry 1992) :



- 2) La méthanogenèse hydrogénotrophique, durant laquelle il y a couplage entre l'oxydation du H₂ et la réduction du CO₂. Elle a lieu selon la réaction suivante (Thauer et al. 1977) :



La méthanogenèse est très importante car elle empêche l'accumulation de la matière organique (Pourriot et Meybeck 1995). Elle est réalisée par des archées appartenant aux *Euryarchaeota* (Cicerone et Oremland 1988). Les méthanogènes sont abondants dans les environnements où il y a peu d'accepteurs d'électrons tels que l'O₂, NO₃⁻, Fe³⁺ et SO₄²⁻ (Liu et Whitman 2008). En effet, lorsque ces accepteurs sont présents, des organismes tels que des bactéries hétérotrophes aérobiques, des bactéries sulfato-réductrices (SRB), des bactéries dénitrifiantes ou des bactéries réductrices du Fe se développent et entrent en compétition pour les donneurs d'électrons avec les méthanogènes (Mah et al. 1977, Liu et Whitman 2008). Contrairement au milieu marin, les sédiments d'eau douce sont plus pauvres en SO₄²⁻. De ce fait, les méthanogènes ne subissent pas de compétition pour l'acétate avec les SRB, ce qui signifie que la méthanogenèse acétoclastique est souvent dominante dans les sédiments d'eau douce (Liu et Whitman 2008).

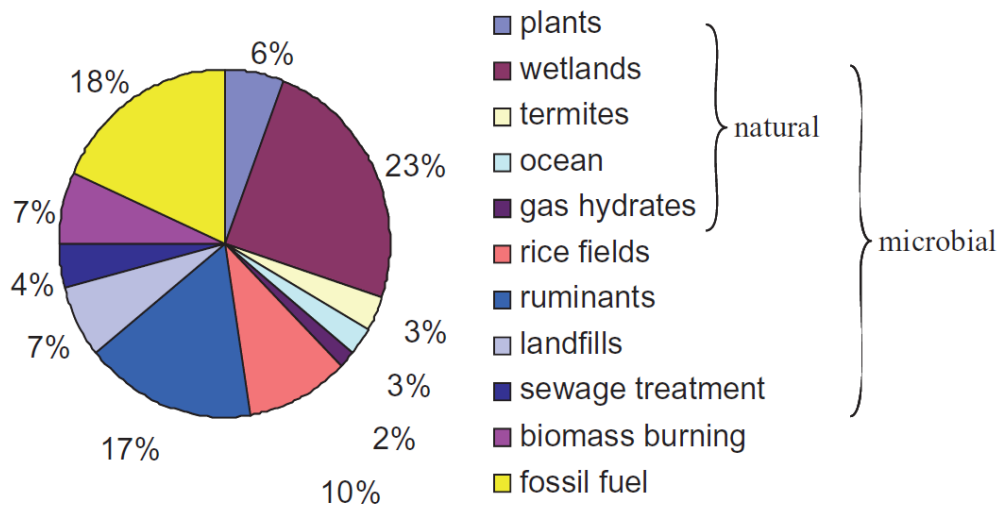


Figure 9 : Sources de méthane globales en pourcentage du budget total d'environ 500-600 Tg CH_4/an (Conrad 2009).

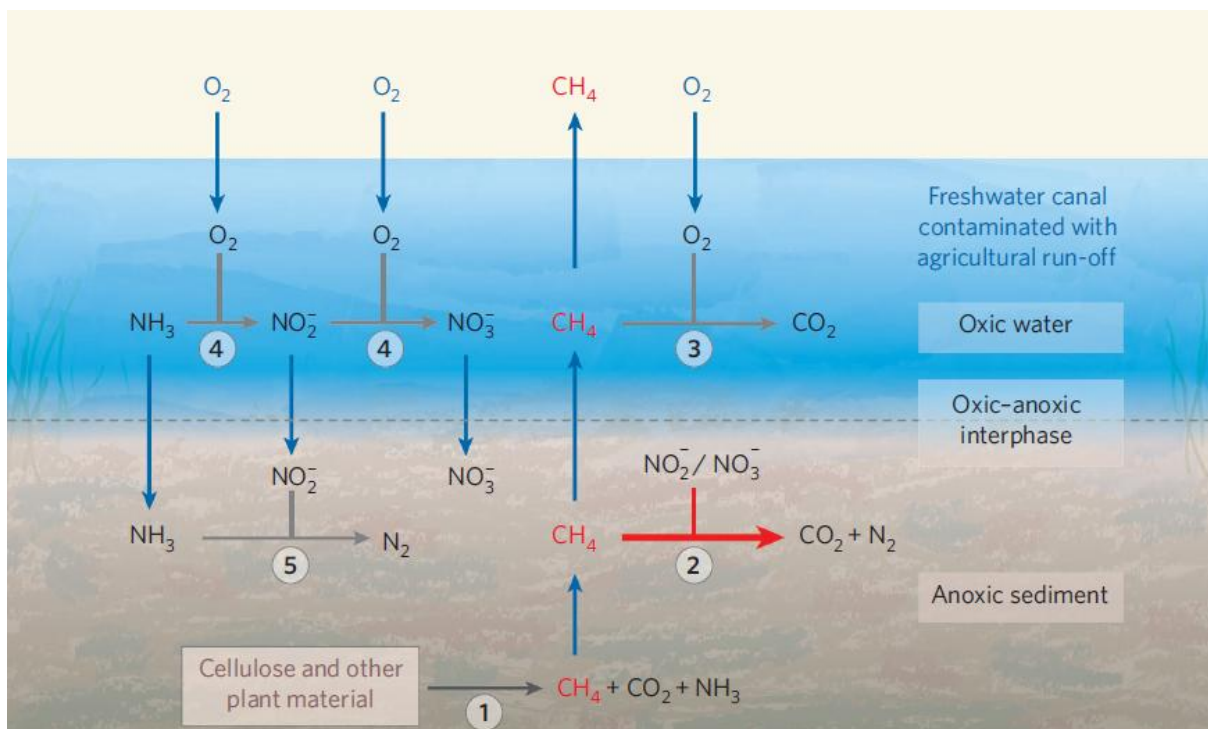
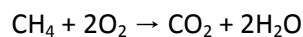


Figure 10 : Oxydation anaérobie du méthane par les nitrates et les processus associés. Ce couplage a lieu dans les systèmes d'eau douce recevant des apports d'azote par l'agriculture et qui contiennent de ce fait beaucoup de NH_3 , NO_2^- et NO_3^- . Les sédiments sont anoxiques et riches en méthane. Les flèches bleues indiquent le transport par diffusion. Les différents processus sont réalisés par différents organismes. 1. Méthanogenèse : bactéries anaérobies, protozoaires et archées méthanogènes. 2. Oxydation du méthane couplée à la dénitrification : archées et bactéries. 3. Oxydation aérobie du méthane : bactéries méthanotrophes. 4. Nitrification : bactéries nitrifiantes. 5. Anammox : bactéries Planctomycètes (Thauer et Shima 2006).

Une partie significative du CH₄ produit va se retrouver dans l'atmosphère (Ferry 1992). En 1998, la concentration du CH₄ dans l'atmosphère était passée à 1745 ppb et continue depuis à augmenter d'environ 7 ppb/an par an (IPCC 2001). La production totale de CH₄ a été estimée à environ 540 Tg CH₄/an, dont 23% (environ 103 Tg CH₄/an) sont produits par les systèmes d'eau douce (dont 49% proviennent des écosystèmes d'eau douce tropicaux), les 77% restants étant répartis entre les écosystèmes marins, les productions anthropiques, les plantes, les hydrates gazeux et les termites (Figure 9) (Cicerone et Oremland 1988, Conrad 2009, Bastviken et al. 2011). Notons que les chiffres présentés ici correspondent au CH₄ émis dans l'atmosphère. Le CH₄ total réellement produit est largement supérieur à cela, une grosse partie étant oxydée avant d'atteindre l'atmosphère (Borges et al. 2011).

Il existe différentes formes d'oxydation du CH₄, ou méthanotrophie. L'oxydation aérobie utilise l'oxygène comme accepteur d'électrons et a lieu aux interfaces oxygène-anoxique tels que la couche oxydée des sédiments (Figure 10) (Pourriot et Meybeck 1995, Conrad 2009). Elle est réalisée par des bactéries méthanotrophes aérobies appartenant aux *Gammaproteobacteria* ou aux *Alphaproteobacteria* (Conrad 2009). Elle a lieu selon la réaction suivante (Valentine 2002) :

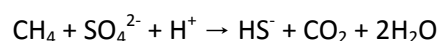


Dans les systèmes lacustres, l'oxydation aérobie du CH₄ est la voie principale de méthanotrophie (Jones et Grey 2011). D'autres types d'oxydation, selon les environnements, sont également possibles. Une voie importante est l'oxydation anaérobie du CH₄ couplée à la réduction des SO₄²⁻.

3.2 Couplage entre le cycle du carbone et le cycle du soufre : l'oxydation anaérobie du méthane couplée à la réduction des sulfates

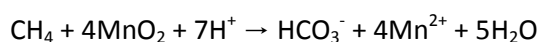
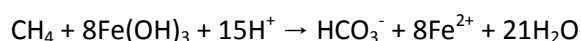
La réduction des SO₄²⁻ est un processus anaérobie de minéralisation de la matière organique ayant lieu principalement au niveau des sédiments et des hypolimnions anoxiques, en milieu marin ou d'eau douce (Pourriot et Meybeck 1995, Leonov et Chicherina 2008). Au cours de ce processus, les SO₄²⁻ sont utilisés comme accepteurs d'électrons, tandis que divers composés organiques peuvent être utilisés comme donneurs d'électrons (les plus courants sont le butyrate, le lactate, l'acétate et le propionate) (Canfield et al. 2005, Lens 2009). L'H₂ et le CH₄, éventuellement issus de la dégradation anaérobie de la matière organique, peuvent également servir d'accepteurs d'électrons (Canfield et al. 2005, Lens 2009). Plus de 100 espèces de bactéries sont capables de réduire les SO₄²⁻ (Lens 2009). La réduction des SO₄²⁻ est beaucoup plus élevée en milieu marin qu'en milieu d'eau douce car la disponibilité en SO₄²⁻ y est beaucoup plus élevée (28 mM, contre 10-500 μM en eau douce) (Canfield et al. 2005).

L'oxydation anaérobie du CH₄ (AOM) est couplée à la réduction des SO₄²⁻ selon la réaction suivante (Strous et Jetten 2004) :



L'AOM a lieu notamment au sein des sédiments et des colonnes d'eau anoxiques (Valentine et Reeburgh 2000). Au sein des sédiments, elle a lieu en particulier au sein des zones de transition SO_4^{2-} - CH_4 présentes entre quelques centimètres à quelques dizaines de mètres en-dessous de la surface des sédiments, selon les conditions locales (Strous et Jetten 2004). Elle a été notamment observée au sein de la mer Noire (Reeburgh et al. 1991, Jorgensen et al. 2001, Durisch-Kaiser et al. 2005, Schubert et al. 2006a), du lac Big Soda (Nevada) (Oremland et Des Marais 1983, Iversen et al. 1987), du lac Mono (Californie) (Oremland et al. 1987) et du lac Kivu (Pasche et al. 2011). Les facteurs principaux régulant ce processus sont l'apport en CH_4 et en SO_4^{2-} , ainsi que la concentration en matière organique (Valentine 2002). L'AOM est réalisée par un consortium d'organismes anaérobiques, à savoir des Eubactéries réductrices du SO_4^{2-} (SRB) (telles que *Desulfosarcina*, *Desulfococcus*, *Desulfobulbus*) et des archées oxydant le CH_4 appartenant aux clusters des ANME (*Euryarchaeota*) (Valentine et Reeburgh 2000, Knittel et Boetius 2009). Il s'agit d'une association syntrophique durant laquelle l'archée méthanotrophe oxyde le CH_4 , produisant un intermédiaire (H_2 , acétate ou formate) qui sera utilisé par le partenaire bactérien comme donneur d'électrons (Valentine et Reeburgh 2000, Hinrichs et Boetius 2002).

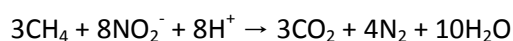
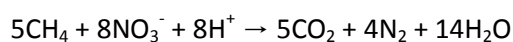
Nous avons vu que l'oxydation du CH_4 peut se faire avec l'oxygène et les SO_4^{2-} comme accepteurs terminaux d'électrons. Elle peut également avoir lieu avec le Fe et le Mn. Par exemple, Crowe et al. (2011) ont montré que l'oxydation anaérobique du CH_4 couplée à la réduction du Fe(III) ou du Mn(III/IV) est thermodynamiquement favorable au niveau du lac Matano (Indonésie), selon les réactions suivantes :



Un autre type d'oxydation du CH_4 utilise les NO_3^- comme accepteurs d'électrons.

3.3 Couplage entre le cycle du carbone et le cycle de l'azote : l'oxydation anaérobique du méthane par les nitrates

Le couplage entre la dénitrification et l'oxydation du CH_4 (Figure 10) peut théoriquement avoir lieu selon les réactions suivantes (Raghoebarsing et al. 2006, Ettwig et al. 2008) :



Toutefois, ce processus n'a encore actuellement été observé que durant des expériences en laboratoire. Knowles (2005), par exemple, a montré, en cultivant des méthanotrophes dans divers environnements, que ceux-ci n'étaient pas eux-mêmes capables de réaliser la dénitrification mais que les intermédiaires qu'ils relâchaient durant l'oxydation du CH_4 , tels que le méthanol, pouvaient servir de substrat pour la croissance et l'activité de bactéries dénitrifiantes. De plus, il a également montré que les méthanotrophes consomment l'oxygène, créant ainsi un environnement favorable pour la dénitrification.

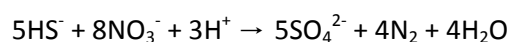
De même, Raghoebarsing et al. (2006) ont observé ce couplage entre l'oxydation du CH₄ et la dénitrification, durant une expérience d'enrichissement des sédiments anoxiques d'un canal des Pays-Bas par un consortium d'organismes capables de réaliser l'AOM couplée à la dénitrification. Durant cette expérience, les NO₂⁻ étaient utilisés préférentiellement aux NO₃⁻ pour la dénitrification, et l'AOM était réalisée par une archée tandis que la dénitrification était réalisée par une bactérie. Notons que ce processus pourrait potentiellement être limité par les concentrations en NO₃⁻, en CH₄ et en SO₄²⁻.

Le dernier couplage que j'évoquerai dans le cadre de ce mémoire est le couplage entre le cycle de l'N et le cycle du S.

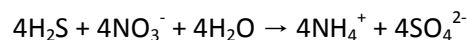
3.4 Couplage entre le cycle de l'azote et le cycle du soufre : l'oxydation des sulfures par les nitrates

Différents processus d'oxydation des sulfures peuvent avoir lieu, selon qu'ils se déroulent en présence de lumière (la réaction la plus courante est l'oxydation anaérobie des sulfures (H₂S) en soufre élémentaire (S⁰), le CO₂ étant utilisé comme accepteur d'électrons, réalisée par des bactéries anaérobies sulfureuses pourpres et vertes ; Pourriot et Meybeck 1995, Canfield et al. 2005, Lens 2009) ou en absence de lumière (avec l'oxygène ou les NO₃⁻ comme accepteurs d'électrons terminaux ; Canfield et al. 2005). Dans ce dernier cas, l'oxygène peut être utilisé par des bactéries dites « non colorées » comme accepteur d'électrons pour l'oxydation des H₂S en SO₄²⁻ (Canfield et al. 2005, Lens 2009). Les NO₃⁻, quant à eux, peuvent servir d'accepteurs d'électrons en anaérobie pour oxyder les H₂S et le S⁰ en SO₄²⁻, selon deux manières différentes (Canfield et al. 2005, Burgin et Hamilton 2008) :

- 1) Soit le NO₃⁻ est réduit en N₂ (il s'agit d'une forme de dénitrification) selon la réaction suivante :



- 2) Soit le NO₃⁻ est réduit en NH₄⁺ (il s'agit d'une forme de DNRA) selon la réaction suivante :



Les produits N₂ et NH₄⁺ ont différents comportements et donc influencent différemment le cycle de l'N. En effet, l'N₂ est perdu de façon permanente par les écosystèmes, tandis que l'NH₄⁺ est retenu par les écosystèmes et est ainsi disponible pour les organismes (Burgin et Hamilton 2008). De nombreuses bactéries peuvent utiliser les NO₃⁻ comme accepteurs d'électrons lors de l'oxydation des H₂S, telles que *Thiobacillus*, *Beggiatoa*, *Thioplaca*, *Desulfovibrio*, etc. (Canfield et al. 2005).

Tout comme la dénitrification hétérotrophe et la DNRA, ce couplage avec la production de SO₄²⁻ constitue une perte de NO₃⁻ par les écosystèmes. Dans les lacs, elle peut être responsable de 25 à 40% des NO₃⁻ perdus (Burgin et Hamilton 2008). Ce processus a été récemment observé dans divers milieux, tels qu'au niveau du fjord Mariager, au Danemark (Jensen et al. 2009), le long du plateau

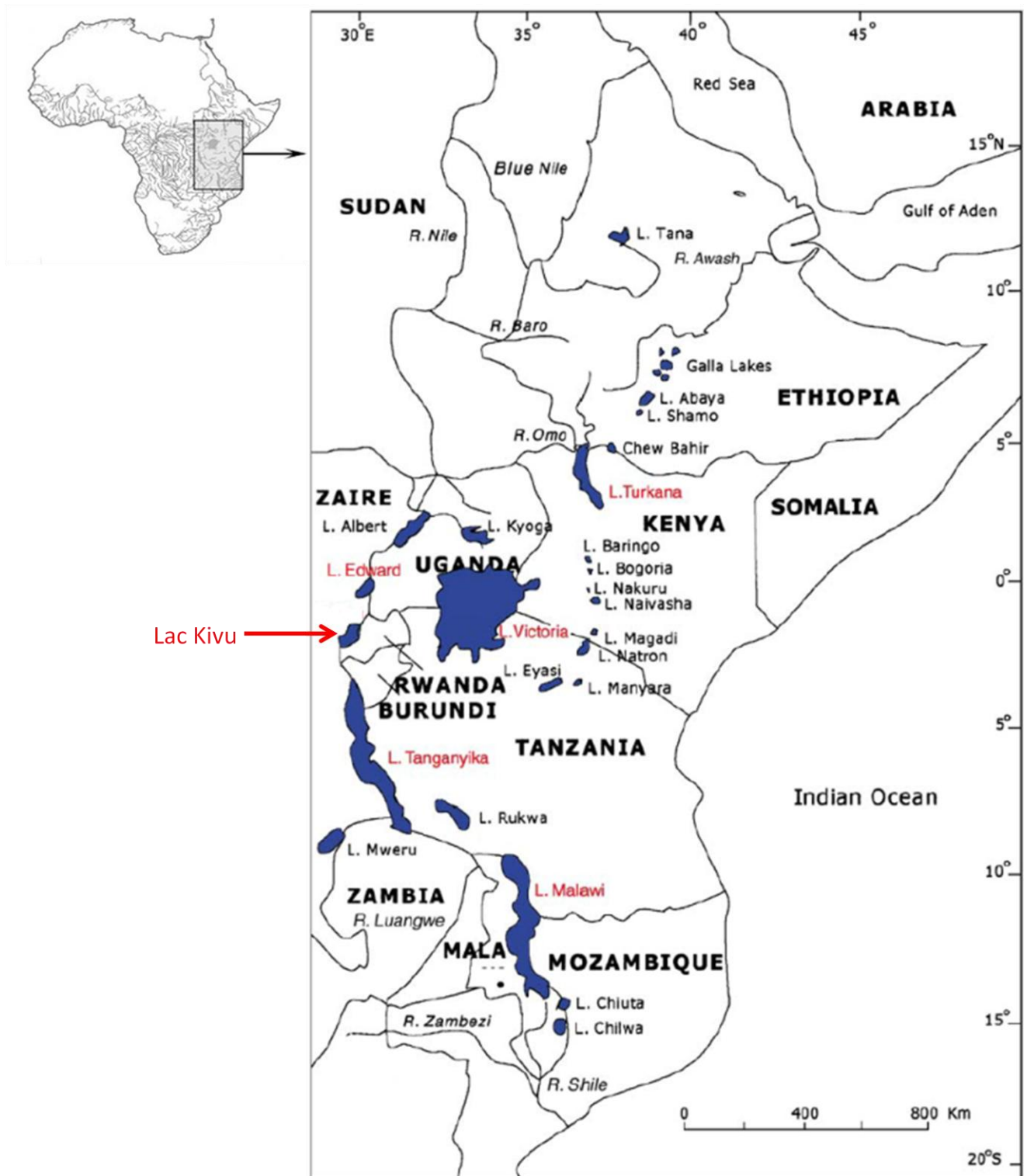


Figure 11 : Grands lacs de la vallée du Rift. Modifié d'après Odada et al. (2003).

continental Ouest-Africain (Lavik et al. 2009) et au niveau des « OMZ » du Pacifique-est tropical (Canfield et al. 2010).

4.

Les grands lacs tropicaux

4.1 L'ensemble des grands lacs du rift est-africain

Les grands lacs du rift est-africain ont été créés lors de la formation de la vallée du rift par une activité tectonique intense. Cette vallée s'étend actuellement de la Mer Rouge au nord au Botswana au sud, mais continue son expansion (Bootsma et Hecky 2003). Cette activité tectonique a donc conduit à la formation d'un grand nombre de lacs dont les trois principaux, d'un point de vue superficie, sont les lacs Victoria (69000 km², ce qui lui confère la place du deuxième plus grand lac du monde), Tanganyika (33000 km², pour une profondeur maximale de 1470 m, ce qui en fait le lac le plus profond du monde) et Malawi (29500 km²) (Bootsma et Hecky 2003) (Figure 11). En plus de ces trois grands lacs, une série d'autres étendues lacustres ont également été formées, dont notamment les lacs Kivu (à cheval sur la République Démocratique du Congo et le Rwanda), Edward et Albert (situés à la frontière entre la République Démocratique du Congo et l'Ouganda). Les grands lacs du rift est-africain sont considérés comme de véritables mers intérieures, de par leur taille et leur salinité élevée (Bootsma et Hecky 2003). Les trois plus grands lacs (Victoria, Tanganyika et Malawi), ainsi que le lac Kivu notamment, sont caractérisés par des eaux profondes anoxiques.

4.2 Le lac Kivu

4.2.1 Présentation générale du système étudié

Le lac Kivu est situé à la frontière entre la République Démocratique du Congo et le Rwanda. Il s'agit d'un lac d'origine volcanique mais, contrairement aux autres grands lacs du rift est-africain, il est issu d'un barrage engendré par l'élévation des volcans de la chaîne des Virunga. Cette chaîne comprend huit volcans dont deux sont toujours actifs actuellement : le Nyiragongo et le Nyamuragira. Cette origine se reflète aujourd'hui dans sa configuration caractérisée par de nombreuses baies et îles. Il se compose en effet de 4 bassins (Nord ou bassin de Gisenyi, Ouest ou bassin de Kalehe, Sud ou bassin d'Ishungu et Est), ainsi que de deux baies principales (la baie de Kabuno au nord-ouest et la baie de Bukavu au sud). Les caractéristiques morpho-métriques du lac Kivu ainsi que d'autres grands lacs du rift est-africain et du monde sont présentées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Superficie, volume, altitude, profondeurs moyenne et maximale des trois plus grands lacs du rift est-africain et du lac Kivu, et de quatre grands lacs du monde.

Grands lacs du rift est-africain				
	Kivu	Malawi	Tanganyika	Victoria
Superficie (km ²)	2370	29 500	32 600	68 800
Volume (km ³)	580	7775	18 900	2760
Altitude (m)	1460	474	774	1134
Profondeur moyenne (m)	245	264	580	40
Profondeur maximale (m)	485	700	1470	79
Autres lacs du monde				
	Titicaca (Chili)	Grand lac de l'Ours (Canada)	Baïkal (Sibérie)	Supérieur (USA)
Superficie (km ²)	8562	31 153	31 500	82 100
Volume (km ³)	893	2236	23 600	12 230
Altitude (m)	3810	186	455	183
Profondeur moyenne (m)	107	72	154	149
Profondeur maximale (m)	284	446	1637	407

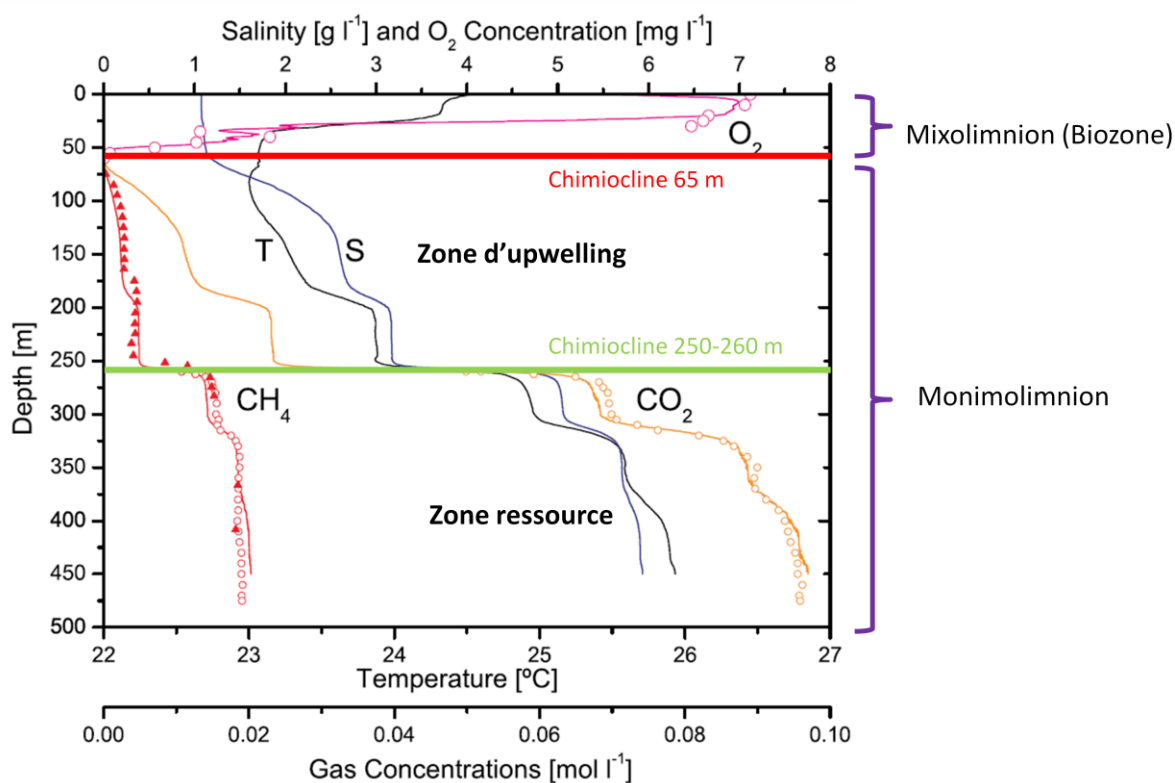


Figure 12 : Structure verticale et profils verticaux de température (T), de salinité (S), et de gaz dissous au niveau du lac Kivu en février 2004. La ligne rouge représente la chimiocline de 65 m de profondeur, tandis que la verte représente la chimiocline de 250-260 m de profondeur. La courbe rouge est la concentration en CH₄ et la courbe orange est la concentration en CO₂. On remarque que le CH₄ et la température sont des facteurs déstabilisants pour la stratification, tandis que la salinité et le CO₂ sont des facteurs stabilisants. Modifié d'après Schmid et al. (2005).

Le lac Kivu présente une faible diversité biologique : seules 29 espèces de poissons ont été recensées actuellement, dont 5 espèces ayant été introduites (dont une espèce de sardine, *Limnothrissa miodon*, ayant été introduite à partir du lac Tanganyika) (Snoeks et al. 2012). Sur les 24 espèces natives du lac Kivu, 16 font partie de la famille des Cichlidae (Snoeks et al. 2012). D'un point de vue phytoplanctonique, on observe une dominance de diatomées, de cyanobactéries et de cryptophytes (Sarmiento et al. 2012). Toutefois, de grandes variations saisonnières dans les compositions phytoplanctoniques sont observées, cela étant dû aux variations dans la profondeur de la couche de mélange, dans la luminosité et dans la disponibilité en nutriments (Sarmiento et al. 2012). D'un point de vue zooplanctonique, 19 taxa ont été identifiés actuellement (Darchambeau et al. 2012) : 3 copépodes, 4 cladocères et 12 rotifères. L'introduction de *Limnothrissa miodon* en 1959 a provoqué une diminution de la biomasse zooplanctonique, réduisant de ce fait la pression de broutage sur le phytoplancton (Darchambeau et al. 2012, Sarmiento et al. 2012).

Tout comme le lac Tanganyika par exemple, le lac Kivu est un lac méromictique. Un lac méromictique est caractérisé par un mélange des eaux incomplet. La structure verticale actuelle du lac Kivu est la suivante (Schmid et Wüest 2012) (Figure 12):

1. Le mixolimnion : Il s'agit d'une zone superficielle (jusque 60-65 m de profondeur) oligotrophe et bien oxygénée, dont la stratification est influencée par les variations journalières et saisonnières de température. Durant la grande saison sèche (de juin à septembre), l'évaporation importante et les forts vents provoquent un refroidissement des eaux de surface, qui deviennent plus froides que les eaux plus profondes du mixolimnion. Elles deviennent ainsi plus denses et coulent, les eaux à la base du mixolimnion remontant ainsi à la surface. Cette zone peut également être appelée la « biozone », étant donné que l'activité biologique aérobie n'a lieu qu'à ce niveau.
2. Le monimolimnion : Il s'agit d'une zone anoxique située en-dessous de 65 m de profondeur, constamment stratifiée, riche en nutriments, en sels et en gaz dissous (environ 300 km³, à pression et température standards, STP, de CO₂ et 60 km³ STP de CH₄) (Schmid et al. 2005, Pasche et al. 2011). On peut la diviser en deux parties séparées par une chimiocline permanente située à 250-260 m de profondeur (Pasche et al. 2009). Des sources d'eaux salées et riches en CO₂ pénètrent le lac à diverses profondeurs, engendrant un déplacement vertical des couches d'eau supérieures (Schmid et al. 2005). La zone superficielle du monimolimnion, située entre le mixolimnion et la chimiocline de 250-260 m est ainsi appelée « zone d'upwelling ». De plus, ces sources subaquatiques engendrent des gradients de densité (thermique, chimique), ce qui permet de maintenir la chimiocline de 250-260 m ; les concentrations en sels Na, Mg, K et Ca augmentent en effet fortement avec la profondeur (Jannasch 1975). La zone profonde du monimolimnion est quant à elle appelée « zone ressource », à cause des grandes quantités de CH₄ qui y sont présentes. Notons qu'en-dessous de 60 m de profondeur, en particulier au niveau des sédiments, le CH₄ est produit par les deux processus microbiens décrits précédemment, à savoir la méthanogenèse acétoclastique et la méthanogenèse hydrogénotrophique (Schoell et al. 1988, Schmid et al. 2005). Au niveau de la zone d'upwelling, il semblerait que la méthanogenèse acétoclastique soit plus importante, intervenant pour 2/3 dans la production du CH₄, tandis que la méthanogenèse hydrogénotrophique n'intervient que pour 1/3 (Pasche et al. 2011). Au niveau de la zone ressource, le contraire est observé (Pasche et al. 2011).

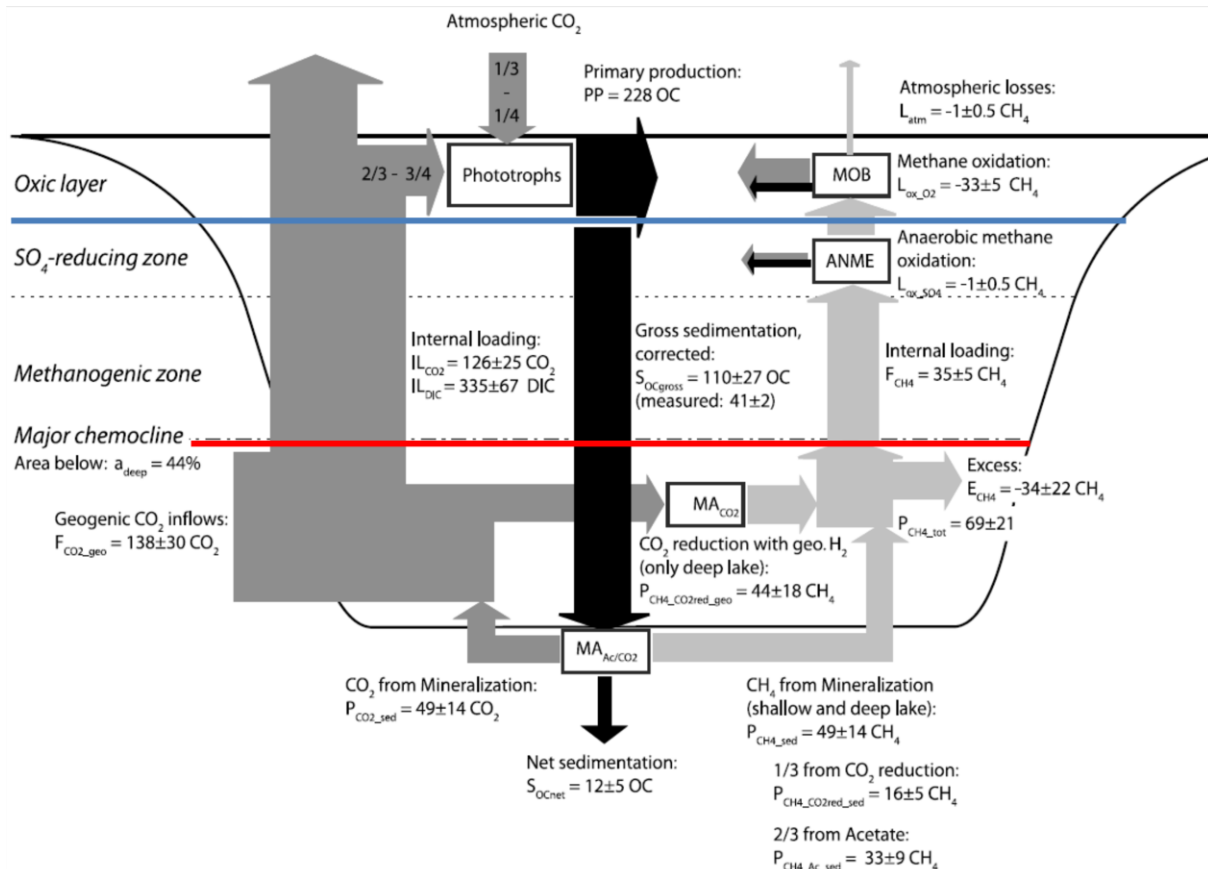


Figure 13 : Cycle du carbone au sein du lac Kivu. Les flux de CH₄ (gris clair), de CO₂ (gris foncé) et de matière organique (noir) sont exprimés en g C m⁻² an⁻¹. La ligne bleue représente l'oxycline, la ligne en pointillés noirs représente la limite inférieure de la zone de réduction des SO₄²⁻ et la ligne rouge représente la chimiocline de 250-260 m. MA_{Ac} : archées réalisant la méthanogenèse acétoclastique ; MA_{CO2} : archées réalisant la méthanogenèse hydrogénotrophique ; ANME : archées oxydant le CH₄ en anaérobie ; MOB : bactéries oxydant le CH₄ en aérobie. Modifié d'après Pasche et al. (2011).

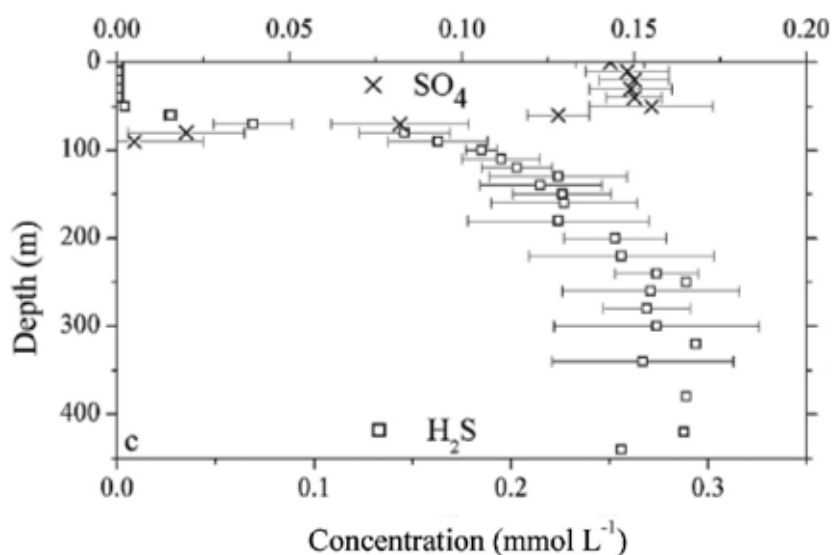


Figure 14 : Zone de gradient SO₄²⁻/H₂S (60-90 m de profondeur) au niveau du lac Kivu (Pasche et al. 2009).

Notons que le CO₂ utilisé lors de la méthanogenèse hydrogénotrophique peut provenir soit de la minéralisation de la matière organique, soit des sources subaquatiques (Pasche et al. 2011) (Figure 13).

Le lac Kivu comprend donc deux chimioclines permanentes : une à 65 m (celle séparant le mixolimnion et le monimolimnion) et une à 250-260 m (celle séparant la zone d'upwelling et la zone ressource au sein même du monimolimnion) (Pasche et al. 2009). La stratification stable du monimolimnion peut s'expliquer par sa grande profondeur, sa salinité et sa concentration en gaz dissous (Schmid et Wüest 2012).

Le bassin d'Ishungu est connecté au bassin principal (bassins Nord et Ouest) à une profondeur de 130 m, tandis que la baie de Kabuno est connectée au bassin principal à environ 11 m de profondeur (Schmid et Wüest 2012). La baie de Kabuno, en particulier, présente une structure verticale différente de celle décrite ci-dessus. Sa profondeur maximum est de 110 m et sa superficie est de 48 km². Elle est stratifiée de manière permanente en-dessous de 11 m de profondeur et présente une conductivité et une concentration en CO₂ plus élevées (Descy et al. 2012). Sa surface subit plus l'influence des sources subaquatiques et sa stratification verticale subit moins l'influence des vents (Borges et al. 2012). En-dessous de l'oxycline (11 m), un pic important de chlorophylle a été détecté, dont notamment des Bacteriochlorophylles e, un biomarqueur spécifique d'un taxon appartenant aux bactéries sulfureuses vertes (GSB) (Llirós et al. 2012). Ces bactéries sont anaérobiques et utilisent le H₂S, l'H₂ ou le Fe²⁺ comme donneurs d'électrons (Llirós et al. 2012). Parmi ces GSB, une population importante et permanente de *Chlorobium ferroxidans* a été détectée.

4.2.2 Processus biogéochimiques supposés sur base des profils des substances chimiques

Les profils des substances chimiques diffèrent selon que l'on se situe en grande saison sèche (de juin à septembre) ou en grande saison des pluies (d'octobre à mai).

1. Saison sèche

Le mixolimnion subit un fort brassage résultant en une forte oxygénation du milieu, tandis que le monimolimnion reste anoxique. L'oxycline est donc particulièrement bien marquée. Le monimolimnion détient principalement les formes réduites de l'N (NH₄⁺), du S (H₂S) et du C (CH₄). L'oxygène étant fortement présent dans les couches superficielles du lac, on s'attend à observer à l'interface oxygène-anoxique des processus aérobies tels que l'oxydation aérobie du CH₄. L'oxydation du CH₄ peut également se faire en utilisant les NO₃⁻ comme accepteurs d'électrons mais étant données les faibles concentrations en NO₃⁻ lors de la saison sèche, ce processus doit être peu présent. En ce qui concerne le S, l'oxydation aérobie des H₂S doit avoir lieu de manière importante à l'interface oxygène-anoxique.

Dans les couches profondes anoxiques, des processus anaérobies s'y déroulent tout au long de l'année. C'est naturellement le cas de la méthanogenèse. L'oxydation anaérobie du CH₄ utilisant les SO₄²⁻ comme accepteurs d'électrons pourrait également y avoir lieu entre 60 et 90 m de profondeur, c'est-à-dire au niveau de la zone de gradient SO₄²⁻/H₂S (ce qui pourrait être un facteur expliquant la diminution des concentrations en SO₄²⁻ dans le monimolimnion) (Figure 14).

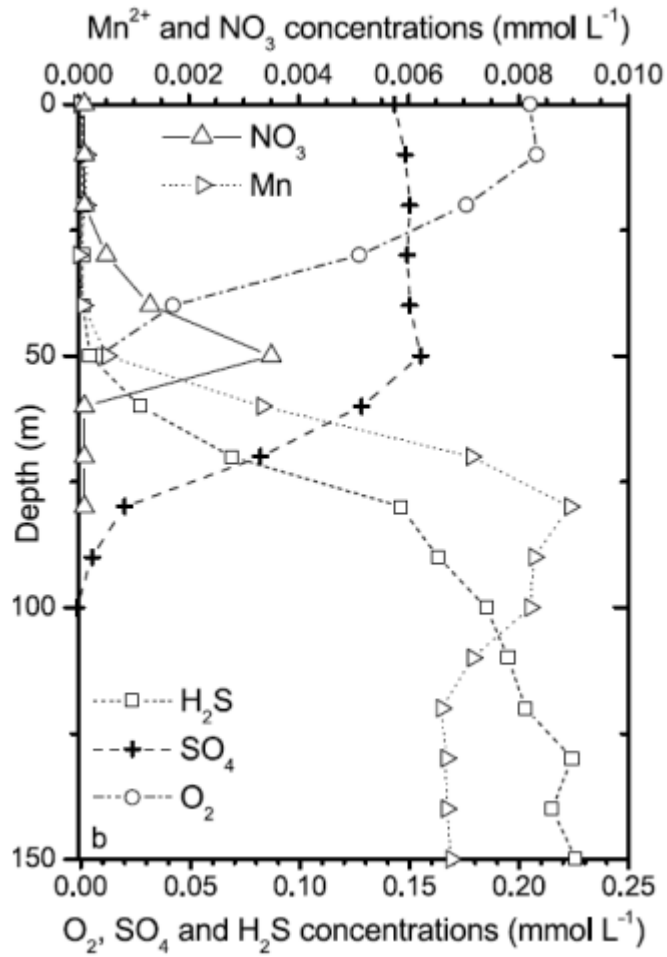


Figure 15 : Profils verticaux des accepteurs d'électrons O_2 , NO_3^- , SO_4^{2-} et des espèces réduites Mn^{2+} et H_2S au niveau du lac Kivu (Pasche et al. 2011).

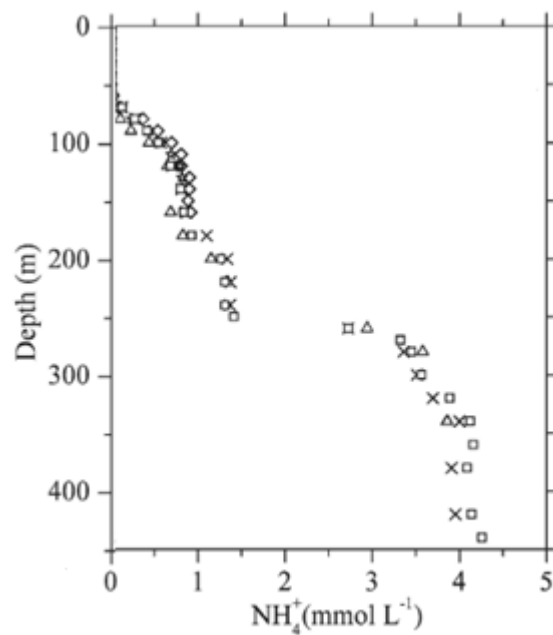


Figure 16 : Evolution des concentrations en NH_4^+ avec la profondeur au niveau du lac Kivu. Modifié d'après Pasche et al. (2009).

L'oxydation anaérobique du méthane peut également se faire via d'autres accepteurs d'électrons, tels que le NO_3^- par exemple. Toutefois, il est possible que les concentrations en NO_3^- soient trop faibles pour que ce processus puisse être important au lac Kivu. En ce qui concerne le S, la réduction des SO_4^{2-} non couplée à l'oxydation du CH_4 doit également avoir lieu. Il pourrait s'agir du deuxième facteur (le plus important) expliquant la diminution des concentrations en SO_4^{2-} dans le monimolimnion. L'oxydation anaérobique des sulfures par les NO_3^- ne peut quant à elle sans doute pas avoir lieu de manière importante, étant donnée la trop faible concentration en NO_3^- .

2. Saison des pluies

Le brassage engendré par le refroidissement de la couche superficielle du mixolimnion durant la saison sèche permet une remontée des nutriments dans les eaux superficielles du mixolimnion, ce qui favorise la croissance du phytoplancton (Sarmiento et al. 2006). Vers octobre-novembre, la stratification se remet en place et on observe une diminution de la concentration en oxygène dans le bas du mixolimnion suite à la décomposition de la matière organique, à la nitrification et à l'oxydation des espèces réduites diffusant à partir des couches profondes anoxiques (Llirós et al. 2012). La décomposition du phytoplancton mort produit de l' NH_4^+ , qui peut alors être utilisé par les organismes nitrifiants pour produire des NO_3^- ou NO_2^- , ce qui a pour conséquence la mise en place d'une nitracline (c'est-à-dire une accumulation de NO_3^- ou de NO_2^- dans une zone définie) (Llirós et al. 2012) (Figure 15). Par conséquent, cette nitrification, consommatrice d'oxygène, contribue également à l'appauvrissement en oxygène du milieu. Notons que cette nitrification appauvrit également la surface en NH_4^+ (Figure 16). En-dessous, toutes les conditions sont ainsi réunies pour que la dénitrification et l'anammox aient lieu, le premier processus utilisant les NO_2^- ou les NO_3^- diffusant à partir de la nitracline comme substrats, le second utilisant ces mêmes NO_2^- ainsi que l' NH_4^+ produit lors de la décomposition des organismes.

La présence de ces NO_3^- peut modifier considérablement les processus se déroulant au sein du lac. En effet, contrairement à ce que l'on peut supposer pour la saison sèche, l'oxydation anaérobique du CH_4 utilisant les NO_3^- comme accepteurs d'électrons pourrait avoir lieu. De même, l'oxydation des H_2S par les NO_3^- pourrait également se dérouler. Enfin, notons que les processus décrits pour la saison sèche dans le monimolimnion doivent demeurer inchangés lors de la saison des pluies.

Ce mémoire s'inscrit dans le cadre du projet East African Great Lake Ecosystem Sensitivity to Changes (EAGLES) financé par la Politique scientifique fédérale belge (BELSPO). Le projet a débuté en janvier 2011 pour une durée de 4 ans. Il s'agit d'un projet multidisciplinaire permettant une collaboration intra-belge, ainsi qu'une collaboration avec diverses universités européennes et africaines. Ce projet a pour objectifs principaux d'expliquer différents aspects du lac Kivu, dont notamment :

- Comprendre en détails le forçage atmosphérique sur les changements saisonniers de la structure physique des eaux superficielles du lac, et ce afin de pouvoir prédire les éventuels changements futurs dans le fonctionnement de l'écosystème induits par des changements climatiques,
- Comprendre les liens entre la structure physique du lac et son fonctionnement écologique,
- Prédire les changements futurs suite aux modifications engendrées par la pêche et par l'exploitation du méthane.

Afin de mener à bien ces recherches, le projet utilise une base de données préexistante reprenant toutes les connaissances actuelles au niveau du lac (en matière de limnologie, de diversité planctonique et ichtyologique ou de météorologie) et met en place des missions de terrain afin de compléter ces données.

Ce mémoire a pour objectif principal de contribuer à compléter les connaissances actuelles sur le cycle de l'N dans les eaux superficielles et intermédiaires du lac Kivu. En particulier, le but est, pour la première fois au lac Kivu, de mettre en évidence et de quantifier les processus suivants :

- la dénitrification hétérotrophe,
- l'anammox,
- la DNRA et
- la fixation de l'azote atmosphérique.

Les variations spatiales (horizontales et verticales) de ces processus seront étudiées.

La dénitrification hétérotrophe couplée à l'oxydation des sulfures, ainsi que l'influence sur la dénitrification d'éléments réducteurs présents au niveau du lac, tels que le Fe et le Mn, seront également abordées au cours de ce mémoire. Enfin, étant donnée l'importance des concentrations en CH₄ dans le lac Kivu, un possible couplage entre son oxydation et la dénitrification sera recherché.

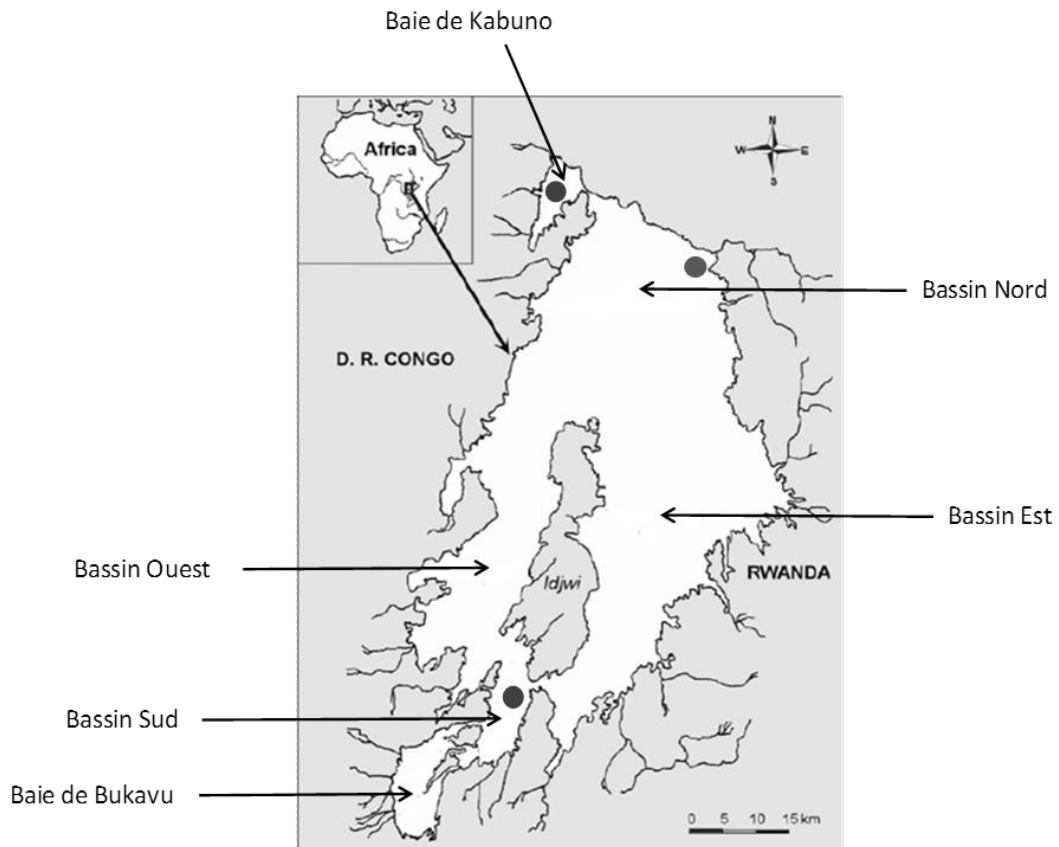


Figure 17 : Bassins et baies du lac Kivu. Les points gris correspondent aux sites échantillonnés au cours de la campagne d'échantillonnage menée sur le lac du 23 janvier au 12 février 2012. Modifié d'après Isumbisho et al. (2006).

a



b



c



Figure 18 : (a) Sonde YSI 6600 V2 (photo de <http://www.ysi.com>), (b) Sonde Hydrolab DS5 (photo de <http://www.hachhydromet.com>), (c) Bouteille Niskin Hydro-Bios 7 litres (photo de <http://envlit.ifremer.fr>).

Matériel et méthodes

1.

Méthodologie sur le terrain

1.1 Sites d'échantillonnage

La campagne d'échantillonnage a été réalisée du 23 janvier au 12 février 2012 (saison des pluies). Trois stations ont été échantillonnées : le bassin d'Ishungu ou bassin Sud (-2,3374 °N, 28,9775 °E), la baie de Kabuno (-1,6216 °N, 29,0497 °E) et le bassin de Gisenyi ou bassin Nord (-1,72504 °N, 29,23745 °E) (Figure 17).

1.2 Mesure des paramètres physico-chimiques et prélèvements

Les paramètres physico-chimiques (température, conductivité, oxygène dissous) ont été déterminés à l'aide d'une sonde YSI (Yellow Springs Instrument) 6600 V2 (Figure 18a) et d'une sonde multiparamétrique Hydrolab DS5 (Figure 18b). Les prélèvements d'eau ont été réalisés à l'aide d'une bouteille Niskin de 7 litres (Hydro-Bios) (Figure 18c).

1.3 Détermination des profils verticaux en nutriments, en chlorophylle *a*, en H_2S et SO_4^{2-}

Pour chaque station, des échantillons d'eau ont été collectés au minimum tous les 5 mètres depuis la surface jusqu'à 70 m de profondeur (Tableau 2) le long de profils verticaux afin d'y déterminer les concentrations en NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , H_2S et SO_4^{2-} .

Parallèlement à cela, des échantillons d'eau ont également été prélevés le long de ces mêmes profils verticaux afin d'y mesurer les concentrations en chlorophylle *a* (Chl*a*). Au maximum 4h après l'échantillonnage, chaque échantillon a été filtré sur un filtre Macherey-Nägel GF5 47 mm. Ces filtres ont ensuite été conservés congelés, à l'abri de la lumière. Endéans la semaine, les pigments ont été extraits à l'acétone 90% suivant la procédure décrite par Pandolfini et al. (2000) et Descy et al. (2000).

1.4 Traitements appliqués aux échantillons

1.4.1 Mesure de l'oxydation du CH_4 , de la production de N_2O et de l'évolution des concentrations en nutriments azotés

Les échantillons ont été collectés à partir de la bouteille Niskin dans des flacons sérum en verre de 50 ml. Pour ce faire, un tuyau raccordé à la bouteille Niskin a été placé au fond de chaque flacon et un « overflow » d'environ trois fois le volume de la bouteille a été réalisé afin de préserver au maximum les flacons d'un apport extérieur en oxygène. Ces prélèvements ont été réalisés au niveau des stations d'Ishungu et de Gisenyi à différentes profondeurs (Tableau 2).

Pour chaque station, 7 flacons sérum ont été collectés par profondeur. Pour chaque profondeur, 2 flacons ont reçu directement 100 μl d'une solution saturée en HgCl_2 (temps $T = 0$). Les autres flacons ont été placés dans un incubateur à l'obscurité et à une température proche de la température du lac. L'incubation de chaque flacon a été stoppée par ajout de 100 μl de cette même solution au rythme d'un flacon par jour (temps $T = 1$ jour, $T = 2$ jours, $T = 3$ jours, $T = 4$ jours et $T = 5$ jours).

Sept autres flacons ont parallèlement été collectés par profondeur, pour chaque station. 0,5 ml d'une solution de molybdate 1 M (inhibiteur des SRB) ont été ajoutés à tous les flacons au temps $T = 0$, afin d'observer l'influence des SRB sur l'oxydation du CH_4 . 100 μl d'une solution saturée en HgCl_2 ont également été ajoutés dans 2 flacons à ce même temps. L'incubation des autres flacons a été stoppée par ajout de 100 μl de cette même solution au rythme d'un flacon par jour (temps $T = 1$ jour, $T = 2$ jours, $T = 3$ jours, $T = 4$ jours et $T = 5$ jours).

1.4.2 Mesure de la dénitrification

Pour chaque site, les échantillons d'eau de différentes profondeurs (Tableau 2) ont été collectés dans des bouteilles de 250 ml munies de bouchon avec septum. La même méthodologie de remplissage à partir de la bouteille Niskin que celle décrite à la section 1.4.1 ci-dessus a été appliquée afin de minimiser de nouveau l'apport extérieur en oxygène. Divers traitements de marquage isotopique, basés sur la méthode utilisée par Thamdrup et Dalsgaard (2002), ont ensuite été réalisés pour chaque station, aux différentes profondeurs. Pour chaque traitement, 2 bouteilles de 250 ml ont été collectées par profondeur. Avant d'injecter les solutions de marquage, un temps de pré-incubation de 6-12h à l'obscurité et à la température du lac a été respecté afin de permettre une mise en place des organismes dans le milieu et la consommation d'un éventuel apport extérieur en oxygène.

- 1) **Ajout de $^{15}\text{NO}_3^-$** : Ce traitement a été appliqué aux stations d'Ishungu, de Kabuno et de Gisenyi (Tableau 2) dans le but de mesurer la production d' N_2 et de mettre ainsi en évidence la dénitrification hétérotrophe et l'anammox, puis d'en établir les taux. Lors d'un marquage isotopique au $^{15}\text{NO}_3^-$, l' N_2 produit lors de la dénitrification hétérotrophe peut être du $^{28}\text{N}_2$ ($^{14}\text{N}^{14}\text{N}$ issu de deux molécules de $^{14}\text{NO}_3^-$ étant présentes naturellement), du $^{29}\text{N}_2$ ($^{14}\text{N}^{15}\text{N}$, le $^{15}\text{NO}_3^-$ ayant été ajouté en excès) et du $^{30}\text{N}_2$ ($^{15}\text{N}^{15}\text{N}$) (Figure 19). Lors de l'anammox, l' N_2

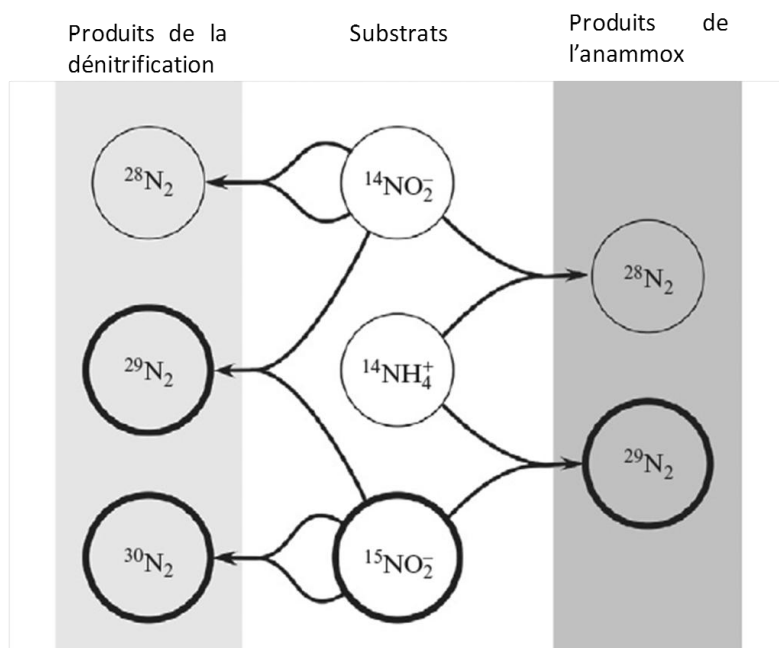


Figure 19 : Isotopes du N_2 produits lors de la dénitrification hétérotrophe (gauche) et de l'anammox (droite) suite à l'ajout de $^{15}\text{NO}_3^-$. Modifié d'après Holtappels et al. (2011).

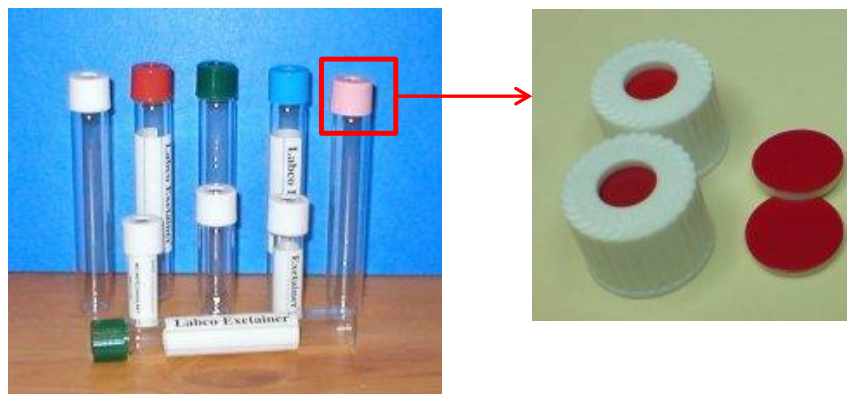


Figure 20 : Tubes Exetainer et septums (photos de <http://www.exetainer.com/> et de <http://www.labco.co.uk/ukandinternational/>).

produit peut être du $^{28}\text{N}_2$ ($^{14}\text{N}^{14}\text{N}$, les $^{14}\text{NH}_4^+$ et $^{14}\text{NO}_3^-$ étant tout deux présents naturellement) et du $^{29}\text{N}_2$ ($^{14}\text{N}^{15}\text{N}$, réaction entre des $^{14}\text{NH}_4^+$ étant présent naturellement et des $^{15}\text{NO}_3^-$ ayant été ajoutés en excès) (Figure 19). L'anammox est ainsi observée lorsque la production de $^{29}\text{N}_2$ est trop élevée pour être expliquée par la dénitrification seule. Pratiquement, 500 μl d'une solution de $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$ 2,5 mM (NO_3^- marqués au ^{15}N) ont été ajoutés aux bouteilles de 250 ml (concentration finale de 5 μM). Directement après l'ajout, le volume de chaque bouteille a été transféré dans 6 tubes Exetainer de 12 ml (soit 12 tubes par profondeur) (Figure 20). Pour ce faire, une seringue de 50 ml munie d'un tuyau a été remplie par aspiration à partir de la bouteille et son volume a été réinjecté dans les tubes Exetainer en pratiquant un « overflow » au moins égal à 3 fois le volume du tube Exetainer afin de minimiser l'apport extérieur en oxygène. Les tubes ont été gardés à l'obscurité et à une température proche de la température du lac tout au long de l'incubation. L'incubation de 2 tubes par temps a été stoppée par l'ajout de 500 μl d'une solution d'acétate de zinc 20 % : aux temps $T = 0$ (durant l'injection de la solution de $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$), $T = 6\text{h}$ après l'injection, $T = 12\text{h}$, $T = 18\text{h}$, $T = 24\text{h}$ et $T = 48\text{h}$. Pour ce faire, deux aiguilles ont été utilisées : une permettant l'ajout de l'acétate de zinc, l'autre permettant de récolter les surplus de liquide. Ces surplus ont ensuite été conservés congelés pour des mesures ultérieures des concentrations en nutriments azotés.

- 2) **Ajout de $^{15}\text{NO}_3^- + \text{H}_2\text{S}$** : Ce traitement a été appliqué aux stations d'Ishungu et de Gisenyi à différentes profondeurs (Tableau 2) afin d'observer l'éventuel couplage entre l'oxydation des sulfures et la dénitrification (oxydation des sulfures par les NO_3^-). Les profondeurs choisies ne présentant pas de H_2S (la zone de sulfato-réduction étant plus profonde), l'ajout de H_2S peut permettre de mettre en évidence ce couplage. 500 μl de la solution de $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$ et 250 μl d'une solution de H_2S 10 mM (concentration finale de 10 μM) ont été ajoutés aux bouteilles de 250 ml. La même méthodologie que pour le premier traitement a été appliquée.
- 3) **Ajout de $^{15}\text{NO}_3^- + \text{Fe}^{2+}$** : Ce traitement a été appliqué à la station de Kabuno à cinq profondeurs (Tableau 2) afin de mettre en évidence le couplage entre le cycle de l'N et le cycle du Fe. Ce traitement a été appliqué au niveau de cette station parce que *Chlorobium ferroxidans* a été identifiée précédemment par pyroséquençage et quantifiée par analyse pigmentaire en HPLC. 500 μl de la solution de $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$ et 1 ml d'une solution de Fe(II) 10mM (concentration finale de 40 μM) ont été ajoutés aux bouteilles de 250 ml. La même méthodologie que pour le premier traitement a été appliquée.
- 4) **Gradient en $^{15}\text{NO}_3^-$** : Ce traitement a été appliqué à la station de Gisenyi à trois profondeurs (Tableau 2) afin d'établir si la concentration en NO_3^- constitue un élément limitant de la dénitrification. Pour ce faire, un gradient de la solution de $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$ a été créé avec des concentrations finales en $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$ de 0,5 μM , 1 μM , 2 μM , 5 μM et 10 μM . La même méthodologie que pour le premier traitement a été utilisée, à l'exception que la cinétique a été réalisée sur 12h au lieu de 48h.
- 5) **Ajout de $^{15}\text{NO}_3^-$ et de matière organique** : Ce traitement a été également appliqué à la station de Gisenyi aux mêmes profondeurs que pour le gradient en $^{15}\text{NO}_3^-$ (Tableau 2). Il s'agit d'un traitement permettant d'établir si la matière organique constitue un élément

limitant de la dénitrification. Pour ce faire, 500 µl de la solution de Na¹⁵NO₃ ont été ajoutés aux bouteilles de 250 ml (concentration finale de 5 µM), ainsi qu'un volume variable (0 ml ou 0,05 ml) d'une solution de matière organique (lysate de culture de *Saccharomyces* sp.). La même méthodologie que pour le premier traitement a été utilisée mais aucune cinétique n'a été réalisée.

1.4.3 Mesure de la fixation de l'azote atmosphérique

Les mesures de la fixation du N₂ sont basées sur Mohr et al. 2010. Les mesures ont été réalisées au niveau des stations de Kabuno et de Gisenyi. Pour chaque station, 8 bouteilles de 250 ml ont été remplies avec de l'eau issue d'un mélange de l'eau de l'épilimnion. Dans chaque bouteille, 12 ml d'eau milli-Q contenant du ¹⁵N₂ dissous (2% de ¹⁵N₂ en concentration finale) ont été ajoutés. Les bouteilles ont ensuite été incubées vers l'heure de midi pendant deux heures *in situ*, juste en-dessous de la surface de l'eau. Chaque bouteille a été équipée d'un filtre de densité neutre et de transparence variant de 100% d'irradiance lumineuse reçue à 0% (obscurité), en passant par 50%, 25%, 12%, 6%, 3% et 1%. L'évolution de l'irradiance en fonction des heures au cours de l'incubation a été mesurée au moyen d'un quantimètre Li-Cor 190. Après deux heures, l'incubation a été arrêtée par ajout de 300 µl d'une solution saturée en HgCl₂.

A la fin de l'incubation, un tube Exetainer de 12 ml a été rempli sans « headspace » pour chaque bouteille afin de mesurer les rapports isotopiques du diazote dissous dans l'eau ($\delta^{15}\text{N}_2$). 100 ml d'eau de chaque bouteille ont également été filtrés sur un filtre Whatman GF/F de 25 mm de diamètre (porosité nominale de 0,7 µm) préalablement grillé pendant 6h à 450°C afin de mesurer la quantité de ¹⁵N incorporé par le seston ($\delta^{15}\text{N-PN}$). Le filtre a ensuite été conservé à -20°C jusqu'à analyse.

2.

Méthodologie en laboratoire

2.1 Mesure des concentrations en N₂O et CH₄

Les mesures des concentrations en N₂O et CH₄ ont été réalisées sur les échantillons décrits précédemment au point 1.4.1. Ces mesures ont été réalisées par chromatographie en phase gazeuse (GC : Gas Chromatography).

Des headspaces ont tout d'abord été créés par injection de 25 ml d'azote gazeux (N₂) dans chaque flacon serum. Le surplus de liquide a été évacué à l'aide d'une aiguille plantée dans le septum des flacons et a été conservé afin d'y mesurer ultérieurement les concentrations en NO₃⁻, NO₂⁻ et NH₄⁺. Les échantillons ont ensuite été mélangés et placés pendant une nuit dans un bain à une température constante et contrôlée proche de la température du milieu afin d'équilibrer les échanges gazeux entre les phases gazeuse et liquide.



Figure 21 : Microplaques à 96 puits (Photo de <http://www.grosseron.com>) .

10 ml de gaz de chaque échantillon ont ensuite été injectés dans un chromatographe à phase gazeuse (SRI Instruments, modèle 8610C, utilisant le N₂ comme gaz porteur). Pour la mesure du N₂O, un « Electron Capture Detector » (ECD) couplé à une colonne Hayesep N a été utilisé, tandis qu'un « Flame Ionization Detector » (FID) couplé à une colonne Hayesep D a été utilisé pour la mesure du CH₄. Les 2 détecteurs ont été calibrés en début et en fin de série par l'emploi de mélanges gazeux de CO₂:CH₄:N₂O:N₂ de 1 ppm, 10 ppm et 30 ppm en CH₄ et de 0,2 ppm, 2 ppm et 6 ppm en N₂O. Les calculs des concentrations en CH₄ et N₂O dissous selon la pression partielle du gaz, du volume de gaz de « l'headspace » et du volume d'eau ont été réalisés sur base de Weiss (1981).

2.2 Mesure de la fixation de l'azote atmosphérique et détermination des taux

Les mesures de fixation de l'azote atmosphérique ont été réalisées sur les échantillons décrits à la section 1.4.3, à la KULeuven (laboratoire du prof. Steven Bouillon).

Afin de mesurer le $\delta^{15}\text{N}_2$ de l'eau, un « headspace » de 2 ml d'hélium a été réalisé dans chaque tube Exetainer le jour précédant les mesures. Ensuite, un certain volume de gaz de chaque Exetainer a été injecté dans un analyseur élémentaire couplé à un spectromètre de masse isotopique (EA-IRMS) (ThermoFinnigan flash HT couplé à une ThermoFinnigan DeltaV Advantage).

Afin de mesurer le $\delta^{15}\text{N-PN}$, chaque filtre a été séché pendant 12h à 50°C, puis encapsulé entièrement dans une cupule en argent, et analysé par le EA-IRMS décrit ci-dessus.

Les taux horaires de la fixation de l'N₂ ont été calculés sur base de la réponse de la fixation de l'N₂ en fonction de l'irradiance et de l'évolution de l'irradiance en fonction des heures. Ces taux ont ensuite été sommés afin d'obtenir une fixation de l'N₂ sur 24h.

2.3 Mesures des concentrations en nutriments azotés

Trois types d'échantillons ont été analysés : les échantillons le long des profils verticaux (section 1.3 ci-dessus), les échantillons obtenus lors des marquages isotopiques (section 1.4.2 ci-dessus), et les échantillons obtenus lors de la création des « headspaces » pour le GC (section 2.1 ci-dessus). Les méthodologies diffèrent.

2.3.1 Echantillons issus des « headspaces »

NO₃⁻ : Les mesures des concentrations en NO₃⁻ ont été réalisées par spectrophotométrie, dans des plaques à 96 puits (Figure 21), selon une méthode adaptée de Miranda et al. (2001). 100 µl d'échantillon ou standard ont été ajoutés au niveau des puits, ainsi que 80 µl d'une solution saturée en chlorure de vanadium (VCl₃) (400 mg de VCl₃ dans 50 ml d'acide chlorhydrique 1N), 10 µl de dichlorure de N-(naphtyl-1) diamino-1,2 éthane (NEDD) 0,1% et 10 µl de sulfanilamide 2% dans de l'HCl 5%. Les plaques ont ensuite été centrifugées à 2500 rpm pendant 5 minutes afin

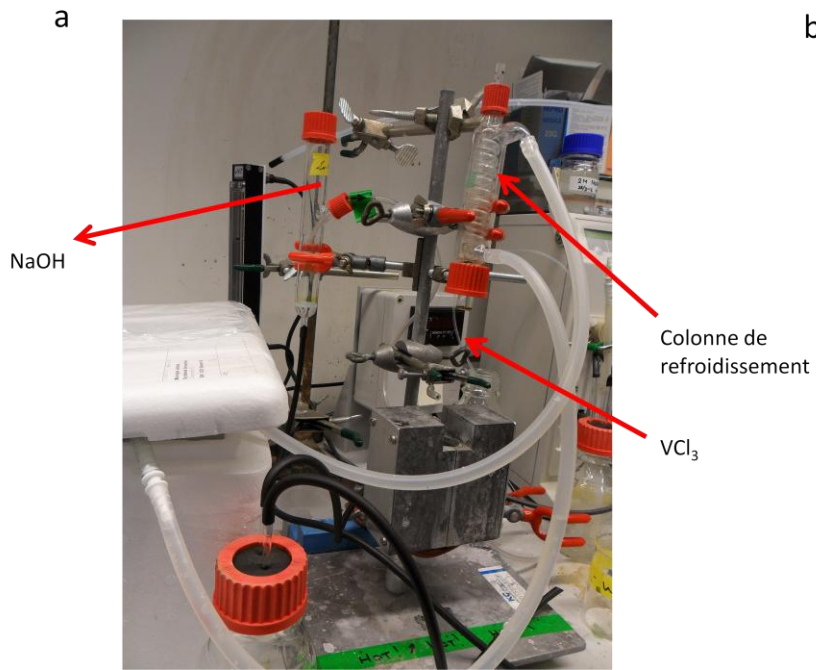


Figure 22 : Système de mesure des concentrations en NO_x par chimioluminescence. a : Système de conversion en NO_x ; b : analyseur.

d'éliminer des bulles présentes au niveau des puits. Une première mesure a été réalisée après 25 min d'incubation à température ambiante, à l'aide d'un lecteur de micro-plaques Multiskan Ascent de Thermo Scientific, à la longueur d'onde de 550 nm, au laboratoire du prof. Jean-Pierre Thomé. Ces plaques ont ensuite été incubées à 37°C pendant 1 heure, puis de nouveau centrifugées et mesurées. La différence entre les absorbances mesurées après 1 h et après 25 min est linéairement corrélée avec la concentration en NO_3^- de l'échantillon ou du standard. La limite de détection de la méthode est de 0,5 μM .

NO_2^- : Les mesures des concentrations en NO_2^- sont basées sur Rodier et al. (2005). En milieu acide, la diazotation du sulfanilamide par les NO_2^- et sa copulation avec le NEDD donne un complexe coloré pourpre susceptible d'un dosage colorimétrique. La lecture a été réalisée dans des cuvettes en verre de 5 cm au moyen d'un spectrophotomètre Thermo Spectronic (modèle Genesys 10vis), à la longueur d'onde de 540 nm.

NH_4^+ : Les mesures des concentrations en NH_4^+ sont basées sur Rodier et al. (2005). L'hydrolyse du dichloroisocyanurate conduit à la formation d'ions hypochlorite. Les NH_4^+ réagissent avec ces derniers, ainsi qu'avec le salicylate de sodium, en présence de nitroprussiate de sodium, pour former une coloration pouvant être mesurée. Les mesures ont été réalisées dans des cuvettes en verre de 5 cm au moyen du même spectrophotomètre que ci-dessus, à la longueur d'onde de 655 nm.

2.3.2 Echantillons issus des profils verticaux et des marquages isotopiques

NO_x : Les échantillons ont été analysés au laboratoire du NordCEE (University of Southern Denmark, Directeur Don Canfield) par chimiluminescence suivant la méthode de Braman et Hendrix (1989), dans un analyseur à NO , NO_3 et NO_x , de Thermo Environmental Instruments (Figure 22). Les NO_3^- ont été réduits en NO_x au moyen du réactif de réduction VCl_3 chauffé à 90°C puis refroidi au moyen d'une colonne reliée à un bac de glace.

2.4 Mesure des taux de dénitrification

Ces mesures ont été réalisées sur les échantillons décrits à la section 1.4.2. Un « headspace » a été créé pour chaque tube Exetainer le jour précédant les mesures par injection de 1 ml d'hélium. Les tubes Exetainer ont ensuite été placés dans un shaker pendant une nuit. Les mesures ont été réalisées au laboratoire du NordCEE (University of Southern Denmark, Directeur Don Canfield) par un spectromètre de masse Delta V Plus Isotope Ratio de Thermo Scientific. 50 μl de gaz des « headspaces » y ont été injectés.

Les calculs des concentrations des différents isotopes de l'N sont basés sur Holtappels et al. (2011). Les taux volumétriques de la dénitrification et de l'anammox ont été calculés selon la méthode développée par Thamdrup et Dalsgaard (2002).

Afin d'obtenir des taux en $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ j}^{-1}$ pour établir un bilan de l'N au niveau du mixolimnion du lac Kivu, une intégration de 0 à 70 m de profondeur des taux de dénitrification naturels volumétriques observés a été réalisée.

2.5 Mesure des taux de dégazage du N₂O

Ces mesures ont été réalisées sur les échantillons décrits à la section 1.4.1. Les flux entre les eaux de surface et l'atmosphère du N₂O sont calculés sur base des concentrations en N₂O dans l'eau et dans l'atmosphère (moyenne mensuelle pour Janvier 2012 à Mauna Loa - National Oceanic and Atmospheric Administration - Earth System Research Laboratory), de la paramétrisation du coefficient d'échange en fonction de la vitesse du vent (Cole et Caraco 1998) et de la vitesse du vent (vitesse moyenne de 1,4 m/s ; Borges et al. 2011).

2.6 Mesure des concentrations en chlorophylle a

Les mesures de concentration en Chl_a ont été réalisées à partir des extraits acétoniques décrits à la section 1.3, à la FUNDP (Facultés Universitaires Notre Dame de la Paix), par chromatographie liquide à haute performance (HPLC), selon la méthode en gradient d'élution de Wright et al. (1991). L'analyse a été réalisée par un système HPLC Waters avec une colonne Nova-Pack C18 et les concentrations en Chl_a ont été quantifiées au moyen d'un détecteur Waters PDA de 380 à 530 nm et d'un détecteur en fluorescence Waters à 667 nm. Les calibrations ont été réalisées à l'aide de standards pigmentaires externes (DHI, Danemark).

2.7 Mesure des concentrations en H₂S et SO₄²⁻

Les mesures de concentration en H₂S ont été réalisées au laboratoire du NordCEE (University of Southern Denmark, Directeur Don Canfield), sur les échantillons décrits à la section 1.3, par spectrophotométrie au moyen d'une cellule de 10 cm, selon la méthode développée par Cline (1969).

Les concentrations en SO₄²⁻ ont été déterminées en soustrayant les concentrations en H₂S aux concentrations en sulfures totaux. Ces dernières ont été obtenues par spectrométrie d'émission plasma couplée à une spectrométrie d'émission optique.

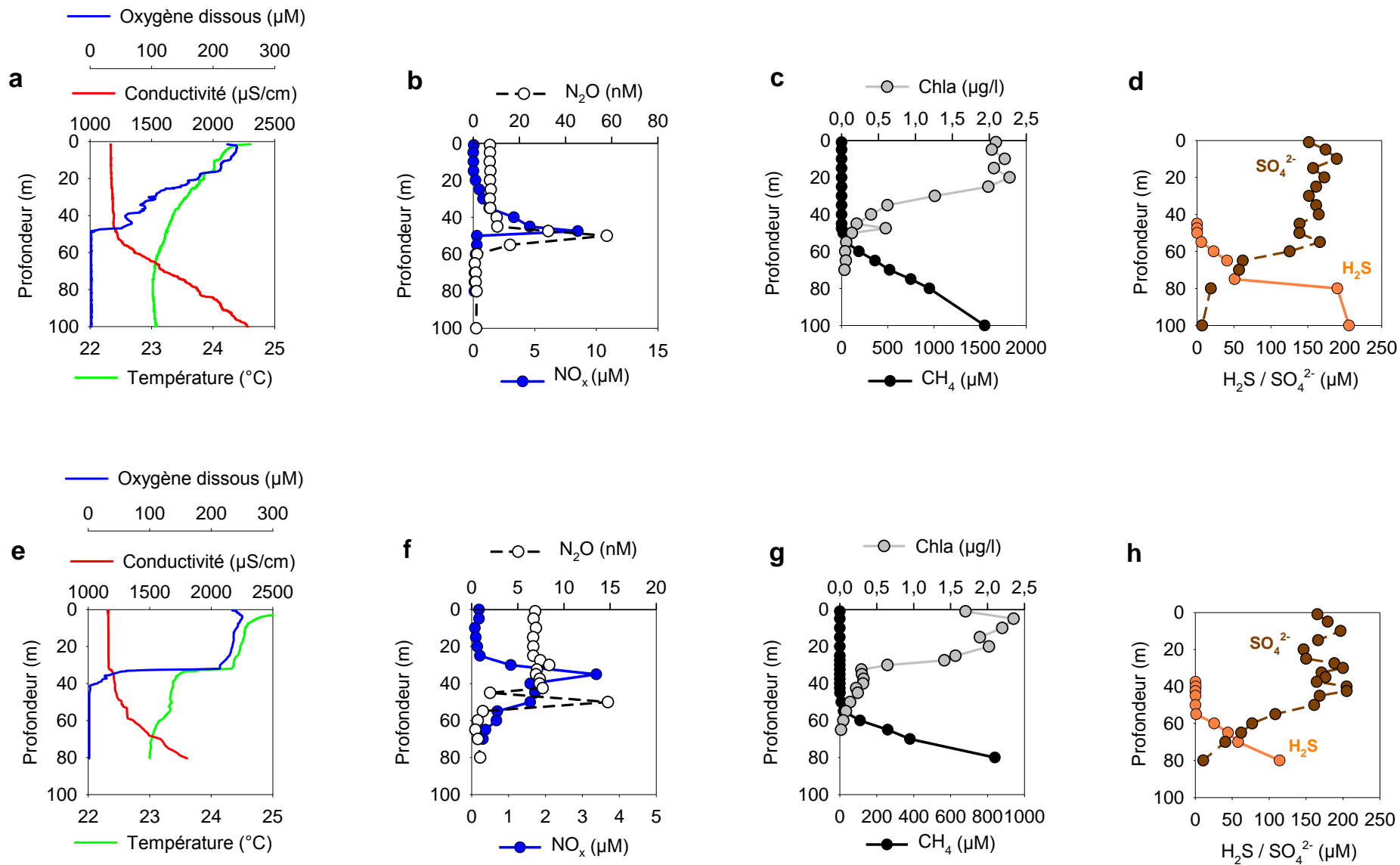


Figure 23 : Paramètres physico-chimiques (température, conductivité spécifique, oxygène dissous ; a et e), profils verticaux en NO_x et N_2O (b et f), profils verticaux en CH_4 et Chla (c et g) et profils verticaux en H_2S et SO_4^{2-} (d et h) pour les stations d'Ishungu (a-d) et de Gisenyi (e-h).

Résultats

1.

Profils physico-chimiques et profils verticaux en CH₄, N₂O, NO_x, Chl_a, H₂S et SO₄²⁻

Les profils physico-chimiques (température, conductivité spécifique et concentration en oxygène dissous) et les profils verticaux en CH₄, N₂O, NO_x (NO₃⁻ et/ou NO₂⁻), Chl_a, H₂S et SO₄²⁻ pour les différentes stations sont présentés aux figures 23 et 24. Pour la station de Kabuno (Figure 24), les concentrations en CH₄ et N₂O n'ont pas pu être mesurées au-delà de 10 m de profondeur à cause de la forte ébullition en CO₂ des eaux lorsqu'elles sont remontées à la surface. Les profils de H₂S et de SO₄²⁻ n'ont pas pu être mesurés non plus à cette même station à cause de la très faible épaisseur de la zone de sulfato-réduction. Les profils en NO_x ne sont jamais présentés dans les résultats pour cette station, leur concentration restant toujours très faibles (<1 μM).

Les stations d'Ishungu et de Gisenyi montrent des profils physico-chimiques relativement comparables (Figure 23a et e). Les eaux de surface sont bien oxygénées et s'étendent sur 40-50 m. Elles superposent une couche d'eau anoxique caractérisée par une salinité croissante. Les 2 couches sont séparées par des oxyclines plus ou moins larges (de 20 à 45 m pour Ishungu, de 35 à 40 m pour Gisenyi). Une thermocline, de 1°C, est présente à la station de Gisenyi et se situe à la même profondeur que l'oxycline, tandis que la station d'Ishungu ne semble pas montrer de thermocline bien distincte. Dans ces deux stations, une couche d'eau intermédiaire enrichie en NO_x (nitracline) est observée (Figure 23b et f). Les concentrations en NO_x sont plus élevées à Ishungu (avec un pic jusqu'à 10 μM) qu'à Gisenyi (maximum de 4 μM). Ces pics de NO_x sont accompagnés, mais de manière plus étroite, par un pic en N₂O, qui est de nouveau plus élevé à Ishungu qu'à Gisenyi.

Concernant les concentrations en Chl_a (Figure 23c et g), on remarque qu'elles diminuent avec la profondeur, ces diminutions suivant exactement la même allure que les profils en oxygène. Notons qu'elles restent toujours faibles, indépendamment de la station échantillonnée. Les concentrations en CH₄, quant à elles, sont très faibles en surface pour les deux stations mais augmentent de manière significative à partir de 50 m de profondeur (Figure 23c et g).

Les concentrations en SO₄²⁻ sont plus élevées en surface, quelle que soit la station (Figure 23d et h). Elles diminuent ensuite à partir de 50 m environ, profondeur à laquelle des H₂S commencent à apparaître.

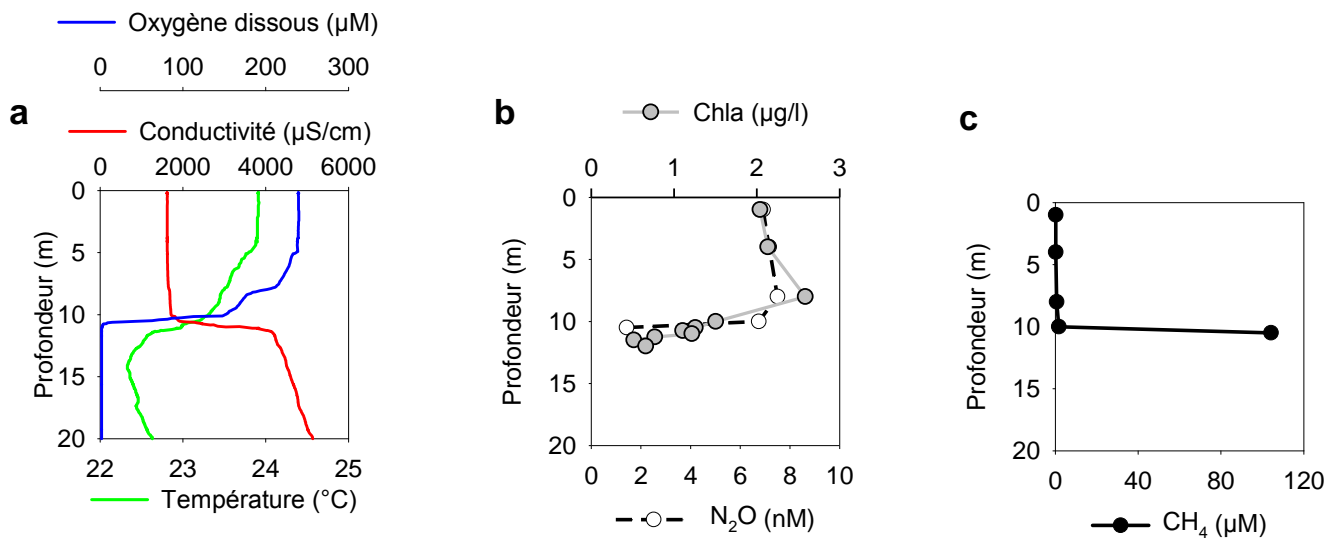


Figure 24 : Paramètres physico-chimiques (température, conductivité spécifique, oxygène dissous (a), profils verticaux en N_2O et Chla (b) et profils verticaux en CH_4 (c) pour la station de Kabuno.

La station de Kabuno (Figure 24) présente une structure verticale des variables physico-chimiques différente de celle des stations du grand lac. La couche de surface, oxygénée, ne s'étend que sur une dizaine de mètres de profondeur. L'oxycline, accompagnée d'une thermocline et d'une chimiocline (gradient de salinité), est très étroite et bien marquée, puisque tout l'oxygène disparaît en moins de 1 mètre. On note également que la conductivité augmente plus vite avec la profondeur que pour les autres stations. Les concentrations en NO_x , quant à elles, y sont toujours faibles et ne montrent pas de zones d'accumulation (absence de nitracline).

2.

Mesures de l'oxydation du CH_4 et de la dénitrification

2.1 Ishungu

L'évolution des concentrations en CH_4 , N_2O et nutriments au cours des incubations de 5 jours, avec ou sans ajout de molybdate (inhibiteur de l'activité des SRB), ainsi que l'évolution des concentrations en NO_x , en $^{30}\text{N}_2$ et en $^{29}\text{N}_2$ au cours des expériences de mesure de la dénitrification sur 48h, sont présentées aux figures 25 à 31 pour les différentes profondeurs échantillonnées à la station d'Ishungu. Les taux potentiels maximums de disparition des NO_x (en $\mu\text{M N/h}$) et de dénitrification (en $\mu\text{M N/h}$) calculés au cours des expériences de mesure de la dénitrification sur 48h, sont présentés à la figure 32.

A partir de 47,5 m de profondeur, un traitement visant à observer l'effet de l'inhibition de l'activité des SRB sur l'oxydation du CH_4 a été ajouté aux expériences d'évolution des concentrations en CH_4 , N_2O , NO_2^- , NO_3^- et NH_4^+ sur 5 jours. Les mesures de la dénitrification ont quant à elles été réalisées avec ou sans ajout initial de H_2S (5 μM) afin de pouvoir mettre en évidence un éventuel couplage entre la dénitrification et l'oxydation du H_2S .

A 45 m, aucune évolution significative des concentrations en N_2O et CH_4 (Figure 25a) et en nutriments (Figure 25b) n'est remarquée au cours des 5 jours d'incubation. Les incubations réalisées sur 2 jours après ajout de $^{15}\text{NO}_3^-$ montrent également une absence d'évolution significative des concentrations en NO_x , quel que soit le traitement (avec ou sans ajout de H_2S) (Figure 25c). De même, aucune production de $^{30}\text{N}_2$ et de $^{29}\text{N}_2$, quelque soit le traitement, n'est observée (Figure 25d et e).

A 47,5 m, lorsqu'il n'y a pas eu ajout de molybdate lors des incubations de 5 jours (Figure 26a et b), une diminution rapide des concentrations en CH_4 et en NO_2^- est observée, tandis qu'aucune variation importante des concentrations en N_2O , en NH_4^+ et en NO_3^- n'est détectée. Les mêmes tendances sont observées dans le traitement avec inhibition des SRB (ajout de molybdate ; Figure 26f et g). L'expérience de mesure de la dénitrification sur 48h (avec ajout initial de $^{15}\text{NO}_3^-$; Figure 26c-e) ne montre aucune évolution significative des concentrations en NO_x (que ce soit avec ou sans ajout de H_2S) et aucune production de $^{30}\text{N}_2$ et de $^{29}\text{N}_2$.

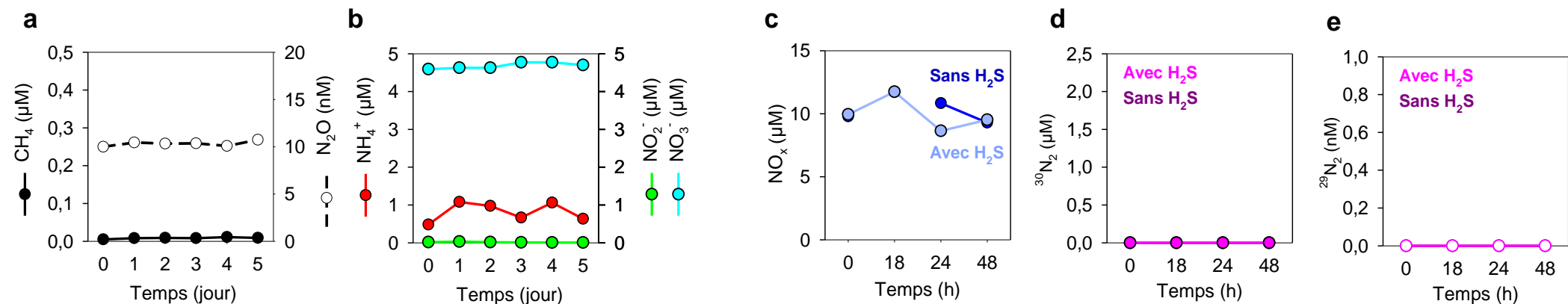


Figure 25 : Evolution des concentrations en CH₄ et N₂O (a) et en nutriments (b) au cours des incubations de 5 jours (sans inhibiteur de l'activité des bactéries sulfato-réductrices) et évolution des concentrations en NO_x (c), en ³⁰N₂ (d) et en ²⁹N₂ (e) au cours de l'expérience de mesure de la dénitrification sur 48h, à 45 m à la station d'Ishungu.

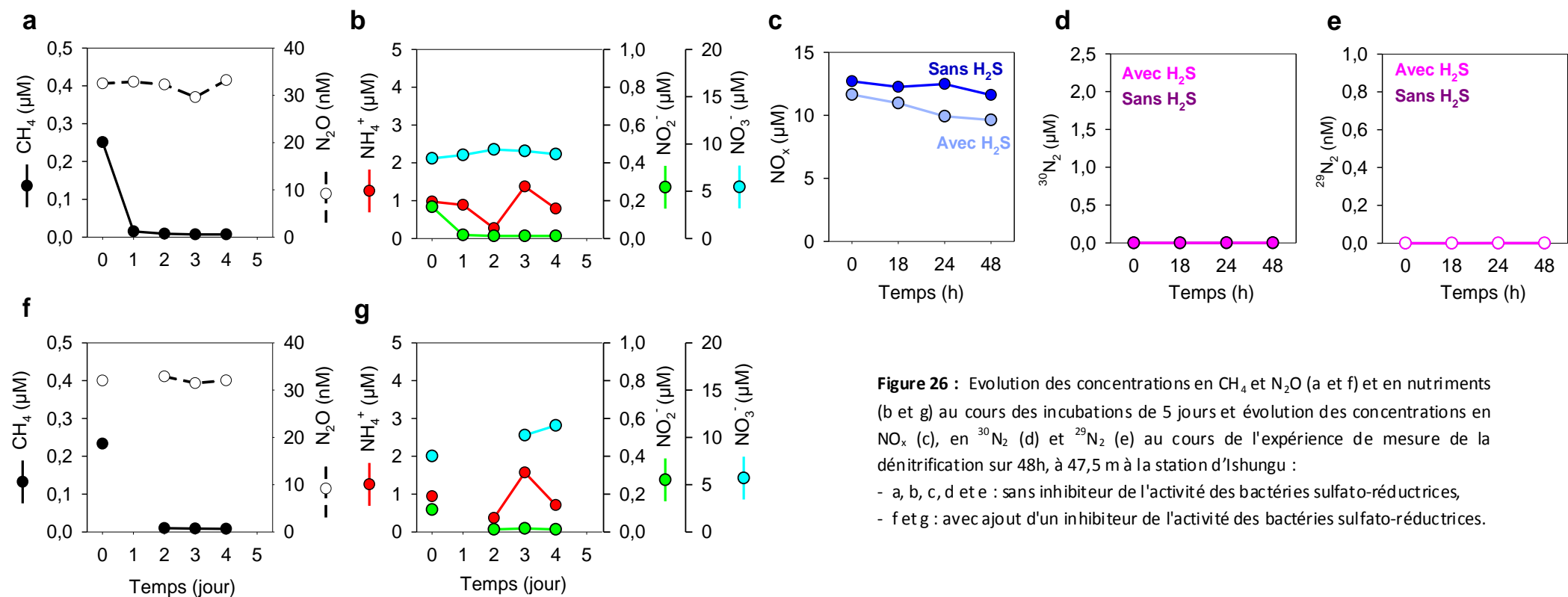


Figure 26 : Evolution des concentrations en CH₄ et N₂O (a et f) et en nutriments (b et g) au cours des incubations de 5 jours et évolution des concentrations en NO_x (c), en ³⁰N₂ (d) et ²⁹N₂ (e) au cours de l'expérience de mesure de la dénitrification sur 48h, à 47,5 m à la station d'Ishungu :

- a, b, c, d et e : sans inhibiteur de l'activité des bactéries sulfato-réductrices,
- f et g : avec ajout d'un inhibiteur de l'activité des bactéries sulfato-réductrices.

A 50 m, dans le traitement sans ajout de molybdate, une diminution progressive des concentrations en CH_4 est observée au cours du temps, tandis que tous les N_2O ont disparu après 2 jours (Figure 27a). Une diminution importante des concentrations en NH_4^+ est également observée au 2^{ème} jour d'incubation qui correspond à une légère augmentation des concentrations en NO_2^- et NO_3^- (Figure 27b). Dans le traitement avec ajout de molybdate, le CH_4 présente le même profil que dans le traitement sans ajout de molybdate, tandis que le N_2O présente un profil un peu plus chaotique, avec une diminution néanmoins progressive au cours du temps (Figure 27f). Un pic important dans les concentrations en NO_2^- et NO_3^- y est cependant observé aux jours 1 et 2 (Figure 27g), ce qui n'était pas le cas dans le traitement sans ajout de molybdate. Les incubations visant à observer la dénitrification sur 48h (donc, avec ajout initial de $^{15}\text{NO}_3^-$) montrent peu de variations dans les concentrations en NO_x (Figure 27c), tandis qu'une légère production de $^{30}\text{N}_2$ et de $^{29}\text{N}_2$ est observée au cours du temps (Figure 27d et e). Les résultats du traitement avec ajout de H_2S ne sont malheureusement pas disponibles à cause d'une erreur de manipulation lors de l'injection du $^{15}\text{NO}_3^-$.

A 55 m, une diminution très légère mais constante des concentrations en CH_4 est observée dans les deux traitements (Figure 28a et f). Un pic de N_2O , de NO_2^- et de NO_3^- , en même temps qu'une chute importante des concentrations en NH_4^+ (de 8 μM à 1 μM) est observé après 1 jour dans le traitement avec ajout de molybdate (Figure 28f et g). Après 1 jour, les concentrations en NO_3^- et en NO_2^- diminuent progressivement (d'environ 1 μM en 1-2 jours) alors que les concentrations en NH_4^+ augmentent progressivement (d'environ 3 μM en 2 jours ; Figure 28g). Ces évolutions ne semblent pas présentes dans le traitement sans inhibition des SRB (à l'exception de la chute initiale des concentrations en NH_4^+ , qui est également observée sans ajout de molybdate), bien que l'absence de résultats pour les jours 2 et 5 ne permettent pas d'être vraiment affirmatif sur ce point (Figure 28a et b). Concernant les mesures de dénitrification sur 48h (avec ajout initial de $^{15}\text{NO}_3^-$), une diminution importante des concentrations en NO_x est observée à 18h pour le traitement avec ajout de H_2S , ce qui n'est pas observé dans le traitement sans ajout de H_2S , les concentrations en NO_x diminuant rapidement mais progressivement au cours du temps (Figure 28c). Enfin, une différence remarquable est observée dans la production de $^{30}\text{N}_2$ et de $^{29}\text{N}_2$, puisqu'une production plus importante est observée après 18h dans le traitement avec ajout de H_2S par rapport au traitement sans ajout de H_2S (Figure 28d et e).

A 60 m, aucune évolution significative des concentrations en CH_4 ne semble pouvoir être observée, quel que soit le traitement (Figure 29a et f). Des pics de production de N_2O , de NO_2^- et de NO_3^- sont de nouveau observés après 1-2 jours dans le traitement avec ajout de molybdate (Figure 29f et g). Une augmentation remarquable des concentrations en NH_4^+ est également observée tout au long des 4^{ers} jours d'incubation dans le traitement avec ajout de molybdate (Figure 29h), tandis que le profil des concentrations en NH_4^+ sans ajout de molybdate est relativement chaotique, alternant entre consommation et production de NH_4^+ (Figure 29b). La mesure de la dénitrification après ajout de H_2S n'a pas été réalisée pour cette profondeur, étant donné qu'à partir de celle-ci, les concentrations en H_2S sont déjà naturellement supérieures à 10 μM (Figure 23d). Une consommation totale des NO_x ajoutés au temps $T=0$ (5 μM) est observée après 18h d'incubation (Figure 29c). Une faible production de $^{30}\text{N}_2$ et de $^{29}\text{N}_2$ est observée tout au long des 48 h d'incubation (Figure 29d et e).

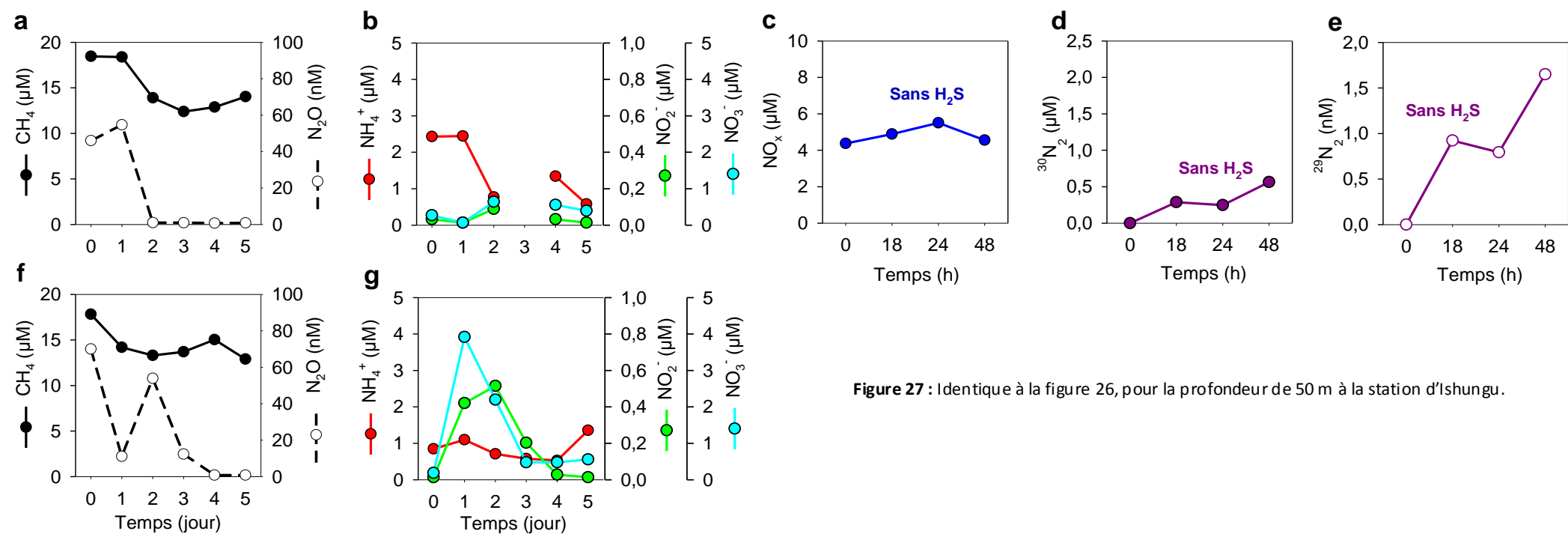


Figure 27 : Identique à la figure 26, pour la profondeur de 50 m à la station d'Ishungu.

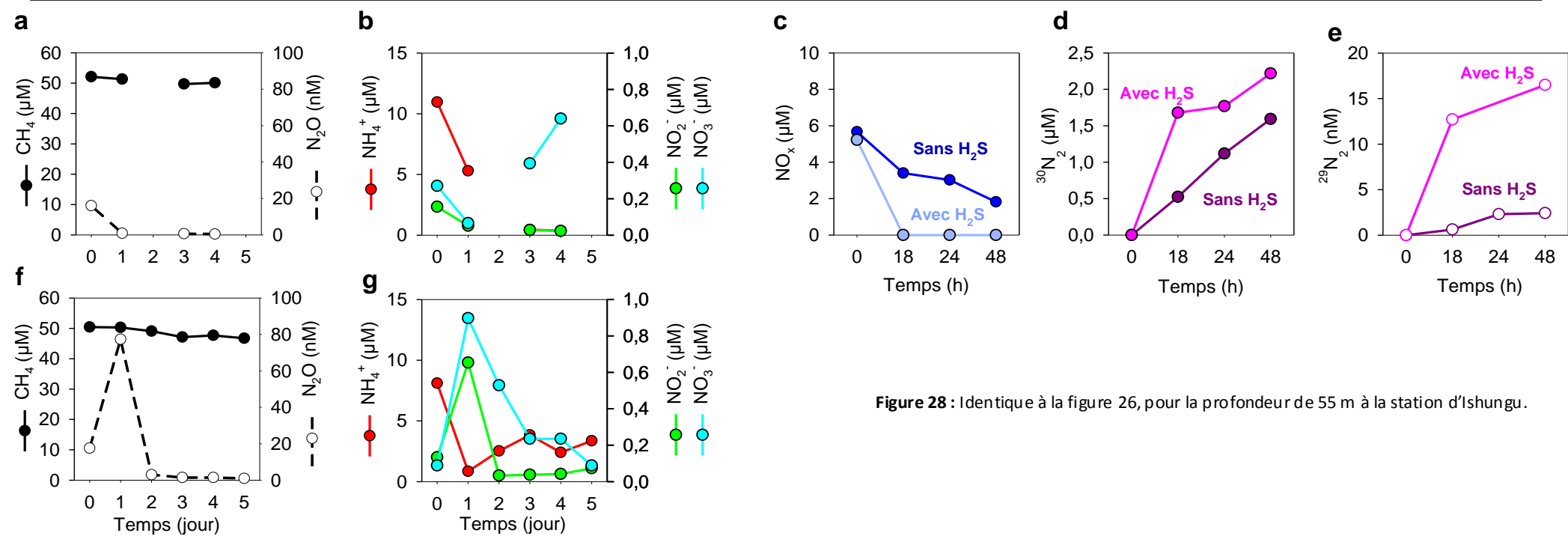


Figure 28 : Identique à la figure 26, pour la profondeur de 55 m à la station d'Ishungu.

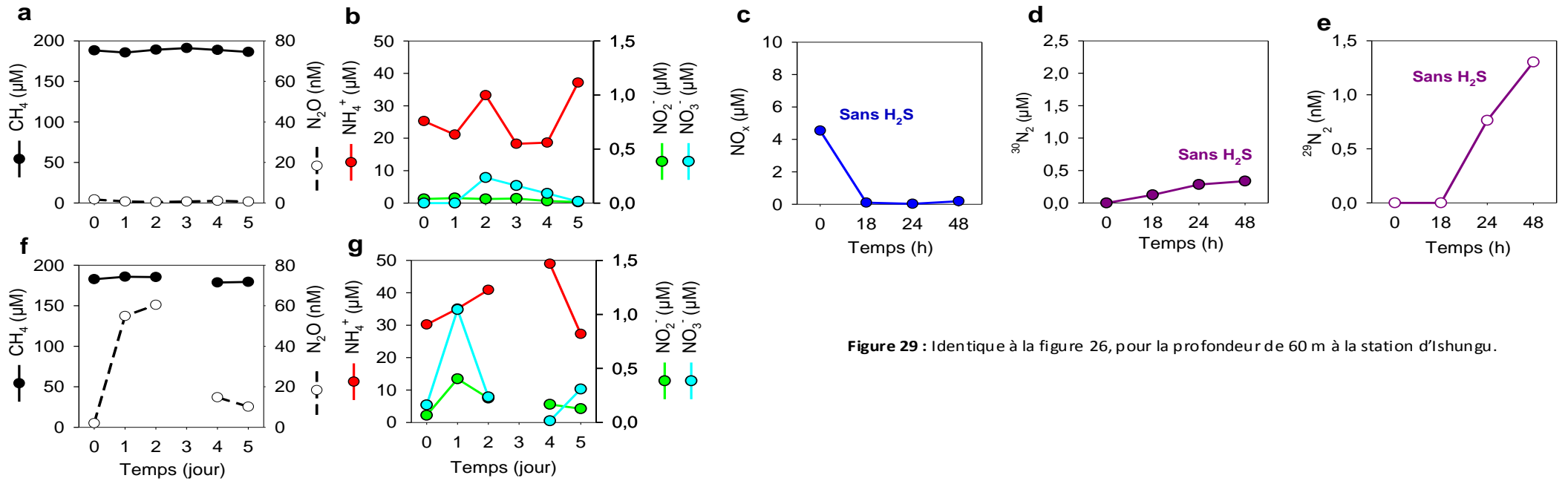


Figure 29 : Identique à la figure 26, pour la profondeur de 60 m à la station d'Ishungu.

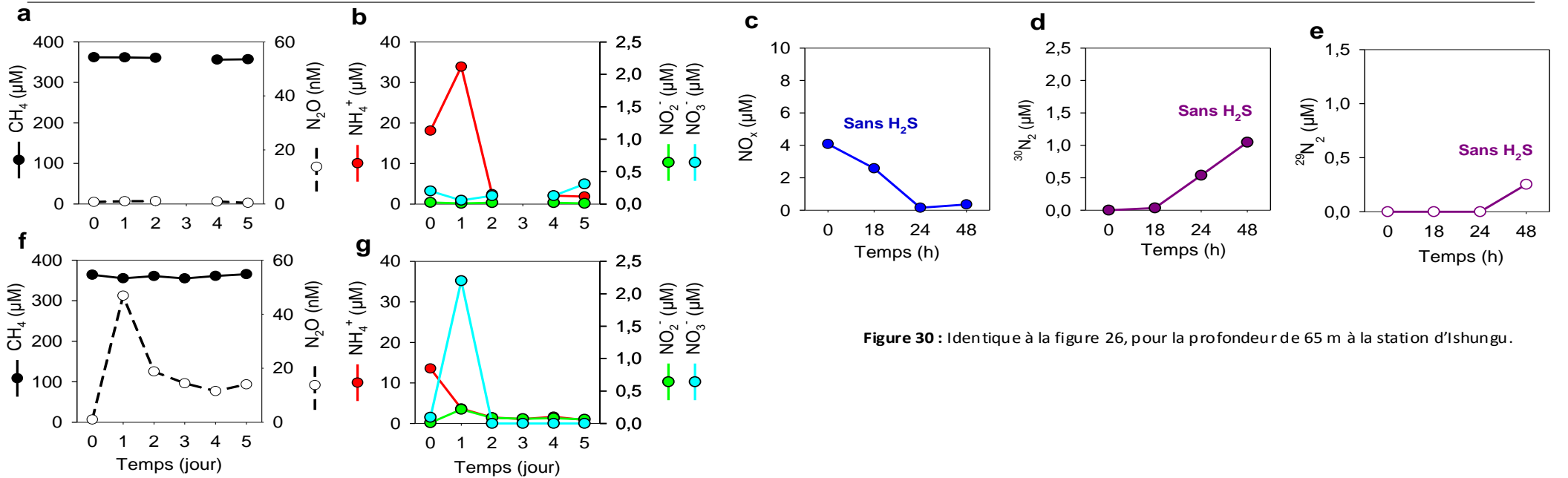


Figure 30 : Identique à la figure 26, pour la profondeur de 65 m à la station d'Ishungu.

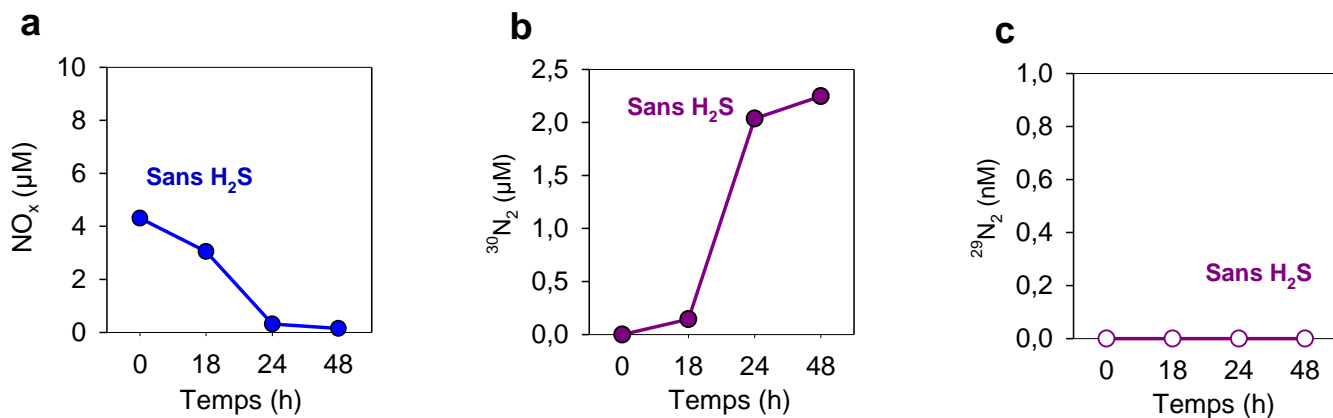


Figure 31 : Evolution des concentrations en NO_x (a), en ³⁰N₂ (b) et en ²⁹N₂ (c) au cours de l'expérience de mesure de la dénitrification de 48h, pour la profondeur de 70 m à la station d'Ishungu.

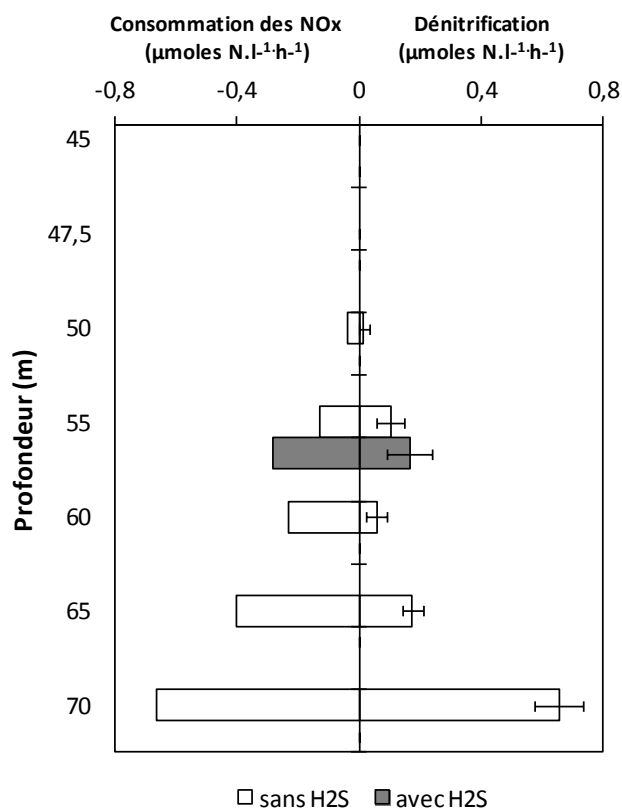


Figure 32 : Taux potentiels maximums de consommation des NO_x (en µM N/h) et de dénitrification (en µM N/h ; avec écart-types), avec et sans ajout de H₂S, au niveau de la station d'Ishungu.

A 65 m, les mêmes observations que pour les profondeurs de 50, 55 et 60 m peuvent être faites : absence d'évolution significative des concentrations en CH_4 , pic de N_2O et de NO_3^- après 1 jour dans le traitement avec inhibition des SRB et une tendance à la consommation des NH_4^+ au cours du temps (Figure 30a, b, f et g). Les mêmes observations que pour la profondeur de 60 m peuvent également être faites concernant les incubations sur 48h visant à mesurer la dénitrification : consommation totale des NO_3^- ajoutés en début d'expérience et production constante, mais cette fois plus importante, de $^{30}\text{N}_2$ (Figure 30c et d). La production de $^{29}\text{N}_2$ observée est par contre plus faible qu'à la profondeur précédente (Figure 30e).

A la profondeur de 70 m, seule l'expérience de mesure de la dénitrification sur 48h a été réalisée. On peut y observer de nouveau une consommation totale des NO_3^- apportés en début d'expérience après 24h d'incubation (Figure 31a), qui coïncide avec une production équivalente de $^{30}\text{N}_2$ (Figure 31b). Aucune production de $^{29}\text{N}_2$ n'a par contre été observée (Figure 31c).

Si l'on observe les taux calculés (Figure 32), on remarque que les taux maximums potentiels de disparition des NO_x sont souvent beaucoup plus élevés que les taux maximums potentiels de dénitrification et ce, indépendamment de l'ajout ou non de H_2S . A 55 m, on remarque que les taux de dénitrification potentielle sont supérieurs lorsque l'on a ajouté du H_2S .

2.2 Gisenyi

L'évolution des concentrations en CH_4 , N_2O , NO_2^- , NO_3^- et NH_4^+ au cours des incubations de 5 jours, avec ou sans ajout de molybdate, ainsi que l'évolution des concentrations en NO_x , en $^{30}\text{N}_2$ et en $^{29}\text{N}_2$ au cours des expériences de mesure de la dénitrification sur 48h sont présentées aux figures 33 à 39 pour les différentes profondeurs échantillonnées à la station de Gisenyi. Les taux potentiels maximums de disparition des NO_x (en $\mu\text{M N/h}$) et de dénitrification (en $\mu\text{M N/h}$) calculés au cours des expériences de mesure de la dénitrification sur 48h, sont présentés à la figure 40.

A 40 m de profondeur, aucune évolution significative des concentrations en N_2O , CH_4 et NO_2^- n'est observée au cours des incubations de 5 jours, quel que soit le traitement (avec ou sans ajout de molybdate) (Figure 33a, b, f et g). Les concentrations en NO_3^- présentent un pic le premier jour d'incubation qui correspond à une chute des concentrations en NH_4^+ , quel que soit le traitement (Figure 33b et g). Les concentrations en NO_3^- diminuent ensuite progressivement dans le traitement avec ajout de molybdate (Figure 33g), tandis qu'elles restent constantes dans le traitement sans ajout molybdate (Figure 33b). Les concentrations en NH_4^+ dans le traitement sans ajout de molybdate (Figure 33b) présentent un profil relativement chaotique, tandis qu'une diminution progressive est observée dans le traitement avec ajout de molybdate (Figure 33g). Aucune évolution des concentrations en NO_x n'est observée dans les incubations sur 48h visant à mesurer la dénitrification (avec ajout initial de $^{15}\text{NO}_3^-$), quel que soit le traitement (avec ou sans ajout de H_2S ; Figure 33c). Enfin, aucune production de $^{30}\text{N}_2$ ni de $^{29}\text{N}_2$ n'est observée à cette profondeur (Figure 33d et e).

A la profondeur de 42,5 m, les incubations sur 5 jours n'ont pas pu être réalisées. Seuls les résultats des mesures de dénitrification sont ainsi présentés (Figure 34a-c). Aucune production de $^{30}\text{N}_2$ et de $^{29}\text{N}_2$ n'y est décelable et les concentrations en NO_x restent relativement stables sur 48 h.

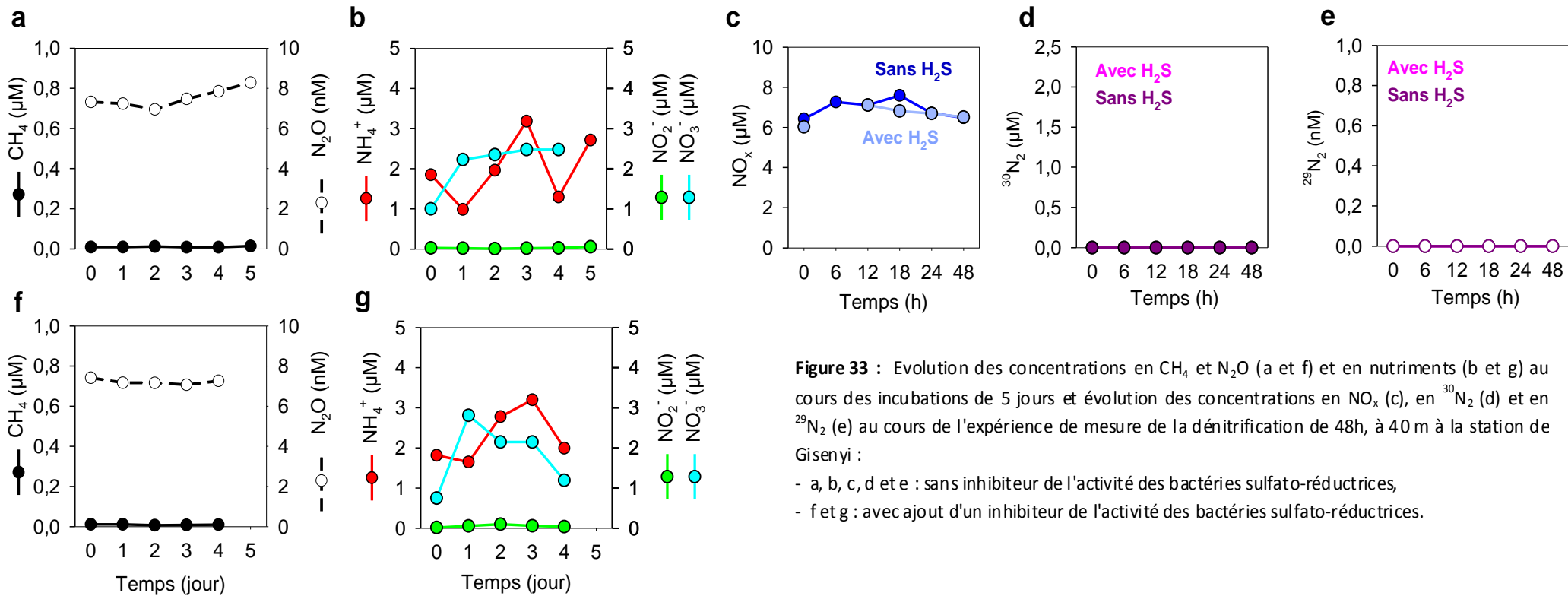
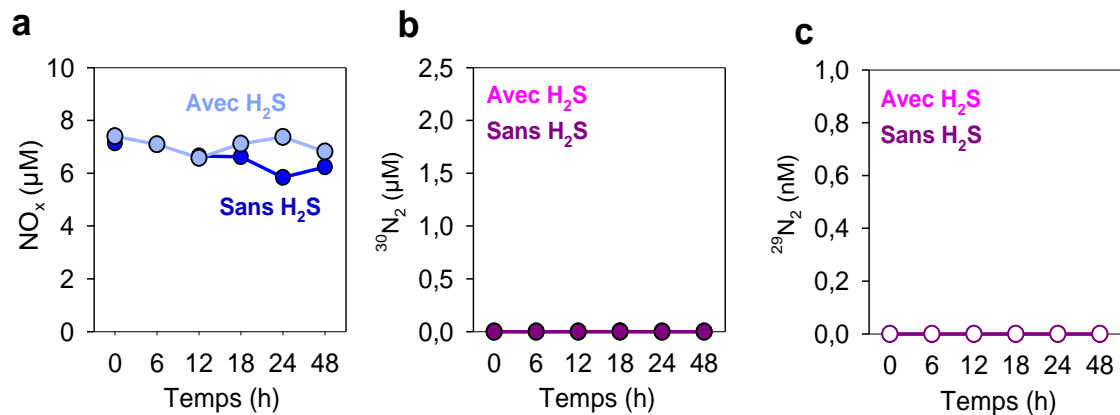


Figure 33 : Evolution des concentrations en CH₄ et N₂O (a et f) et en nutriments (b et g) au cours des incubations de 5 jours et évolution des concentrations en NO_x (c), en ³⁰N₂ (d) et en ²⁹N₂ (e) au cours de l'expérience de mesure de la dénitrification de 48h, à 40 m à la station de Gisenyi :

- a, b, c, d et e : sans inhibiteur de l'activité des bactéries sulfato-réductrices,
- f et g : avec ajout d'un inhibiteur de l'activité des bactéries sulfato-réductrices.

Figure 34 : Evolution des concentrations en NO_x (a), en ³⁰N₂ (b) et ²⁹N₂ (c) au cours de l'expérience de mesure de la dénitrification de 48h, à 42,5 m à la station de Gisenyi.



A 45 m, les concentrations en CH_4 diminuent progressivement au cours du temps et ce de manière équivalente entre les 2 traitements réalisés (avec ou sans ajout de molybdate) (Figure 35a et f). Les concentrations en N_2O , en NH_4^+ , NO_2^- et NO_3^- sans ajout de molybdate (Figure 35a et b) restent, quant à elles, constantes au cours du temps, alors que dans le traitement avec inhibition de l'activité des SRB (ajout de molybdate), les concentrations en N_2O , NO_2^- , NO_3^- et NH_4^+ montrent des évolutions contrastées, avec une augmentation continue du N_2O et des NO_2^- et un pic de NH_4^+ et de NO_3^- après 1-2 jours suivi d'une décroissance au cours des 3-4 derniers jours d'incubation (Figure 35f et g). Aucune évolution significative des concentrations en NO_x n'est observée dans l'expérience de mesure de la dénitrification sur 48h (Figure 35c) et aucune production de $^{30}\text{N}_2$ et de $^{29}\text{N}_2$ n'a été détectée pour cette profondeur (Figure 35d et e).

A 50 m, les concentrations en CH_4 diminuent de manière progressive au cours du temps, le traitement sans ajout de molybdate montrant d'ailleurs une chute importante de la concentration en CH_4 dès le 1^{er} jour (Figure 36a et f). Des différences significatives entre les deux traitements sont également observées au niveau des concentrations en N_2O et NO_3^- , avec une production importante de NO_3^- au 1^{er} jour suivi d'un pic important de N_2O au 2^{ème} jour dans le traitement avec ajout de molybdate (Figure 36f et g), et une diminution progressive des concentrations en NO_2^- et NO_3^- et pas de pic de N_2O dans le traitement sans molybdate (Figure 36a et b). Les concentrations en NH_4^+ , quant à elles, montrent une augmentation progressive durant les deux premiers jours d'incubation dans le traitement sans ajout de molybdate (Figure 36b), tandis qu'elles restent constantes tout au long des 5 jours d'incubation dans le traitement avec ajout de molybdate (Figure 36g). Les concentrations en NO_x montrent également une diminution lente mais progressive au cours du temps dans l'expérience de mesure de la dénitrification (Figure 36c) et ce, quel que soit le traitement (avec ou sans ajout de H_2S). Des productions de $^{30}\text{N}_2$ et $^{29}\text{N}_2$ sont observables pour la première fois à cette station, uniquement lorsque du H_2S a été ajouté (Figure 36d et e).

A 55 m, on remarque que les concentrations en CH_4 diminuent progressivement au cours du temps et ce, indépendamment de l'ajout ou non de molybdate (Figure 37a et f). Sans ajout de molybdate, les concentrations de N_2O restent faibles et constantes tout au long des 5 jours d'incubation, à l'exception d'un léger pic au 1^{er} jour (Figure 37a). Au contraire, les concentrations en N_2O avec ajout de molybdate présentent un pic important au 2^{ème} jour (Figure 37f). Concernant les nutriments, sans inhibition de l'activité des SRB, les NO_3^- et NO_2^- présentent un pic de concentration au 1^{er} jour d'incubation (Figure 37b), ce qui correspond au léger pic de N_2O observé précédemment (Figure 37a). Les concentrations en NH_4^+ diminuent le 1^{er} jour, puis présentent un pic aux 2^{ème} et 3^{ème} jours, pour ensuite re-diminuer progressivement (Figure 37b). Avec ajout de molybdate, on observe un pic de NO_2^- le 2^{ème} jour et un pic de NO_3^- le 4^{ème} jour (Figure 37g), tandis que les concentrations en NH_4^+ présentent un maximum au 2^{ème} jour et diminuent ensuite progressivement, ne différant pas énormément, de ce fait, des concentrations observées sans ajout de molybdate. Les concentrations en NO_x , quant à elles, ne diffèrent pas entre les deux traitements de l'expérience de mesure de la dénitrification, une diminution progressive étant observée dans les deux cas (Figure 37c). On remarque une production plus importante de $^{30}\text{N}_2$ avec ajout de H_2S , le traitement sans ajout de H_2S ne présentant une petite production de $^{30}\text{N}_2$ qu'après 48h d'incubation (Figure 37d). Il y a par contre une plus grande production de $^{29}\text{N}_2$ sans H_2S (Figure 37e).

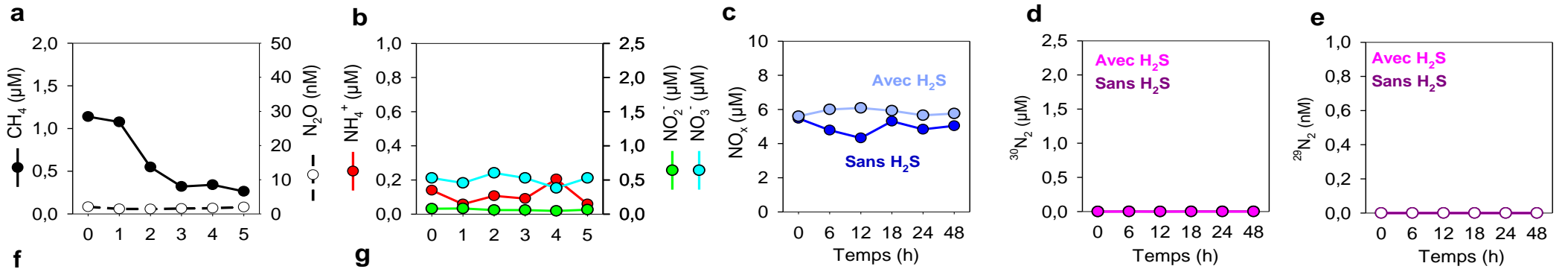


Figure 35 : Identique à la figure 33, pour la profondeur de 45 m à la station de Gisenyi.

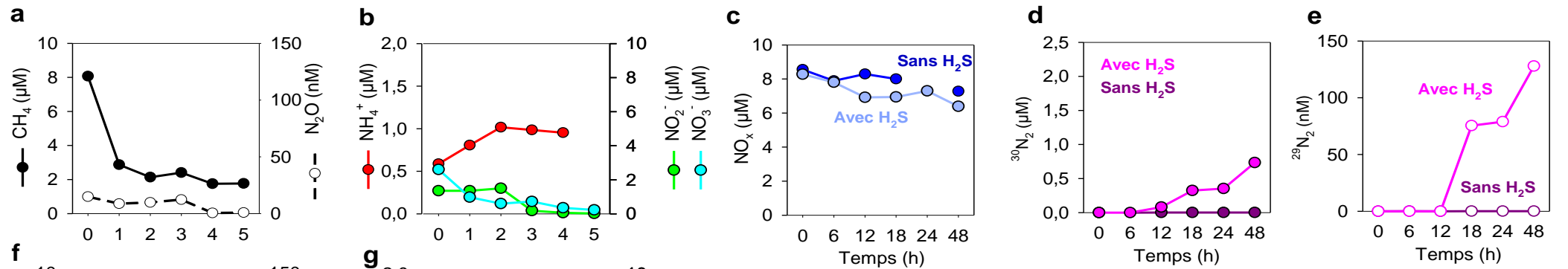


Figure 36 : Identique à la figure 33, pour la profondeur de 50 m à la station de Gisenyi.

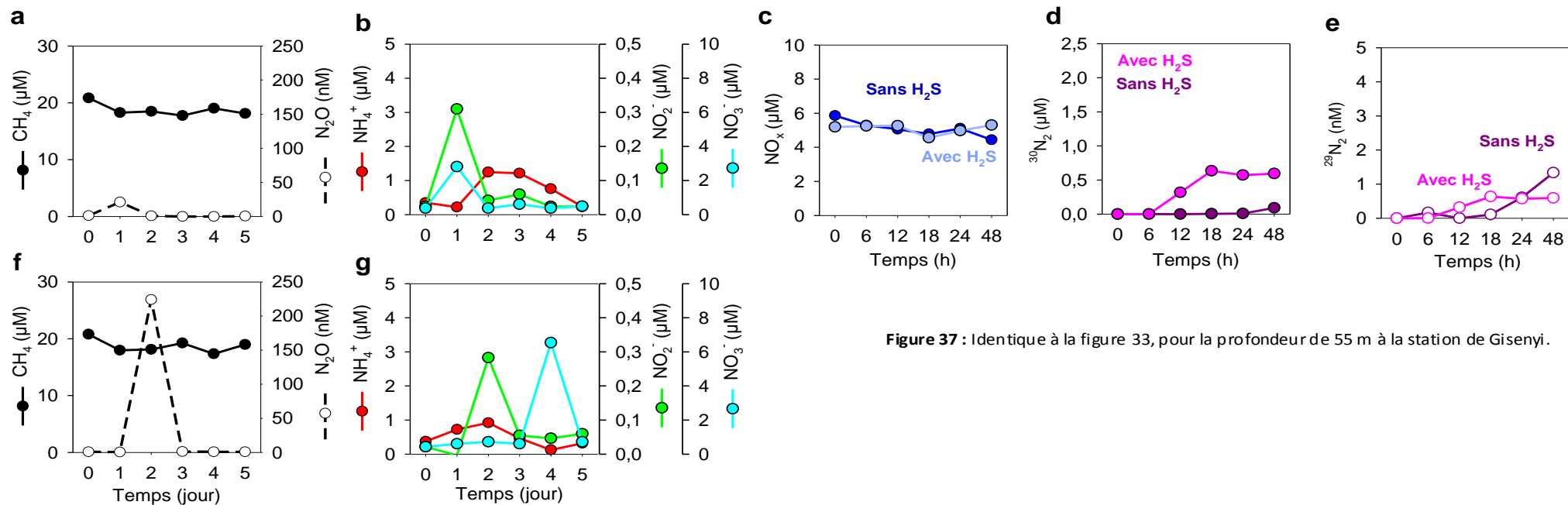


Figure 37 : Identique à la figure 33, pour la profondeur de 55 m à la station de Gisenyi.

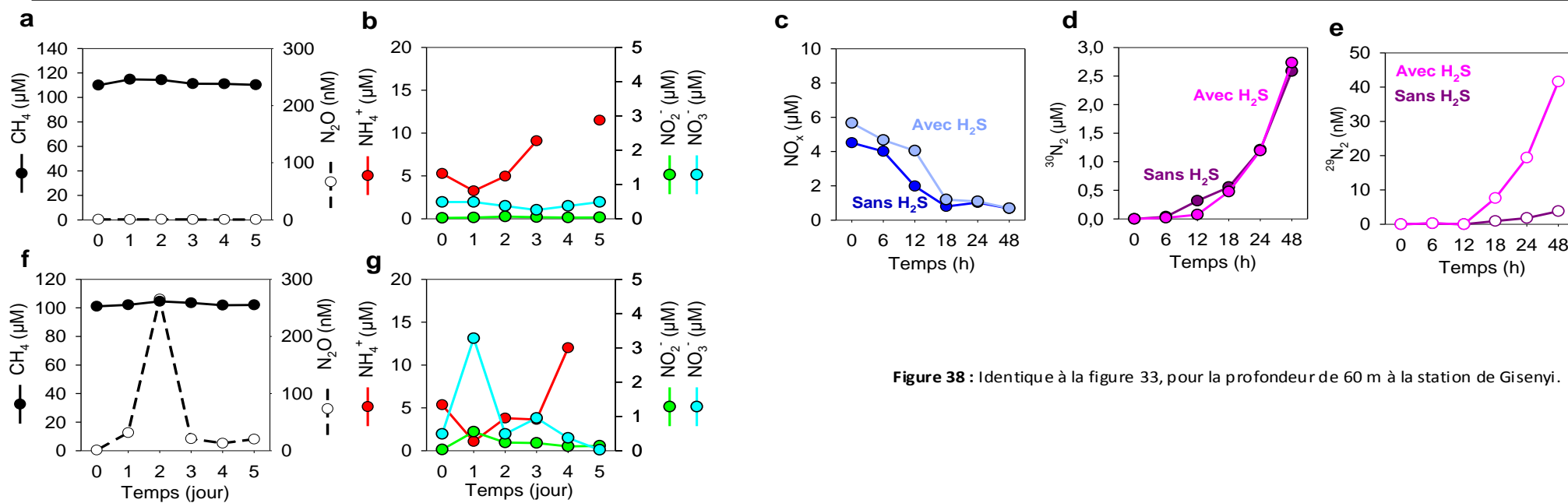


Figure 38 : Identique à la figure 33, pour la profondeur de 60 m à la station de Gisenyi.

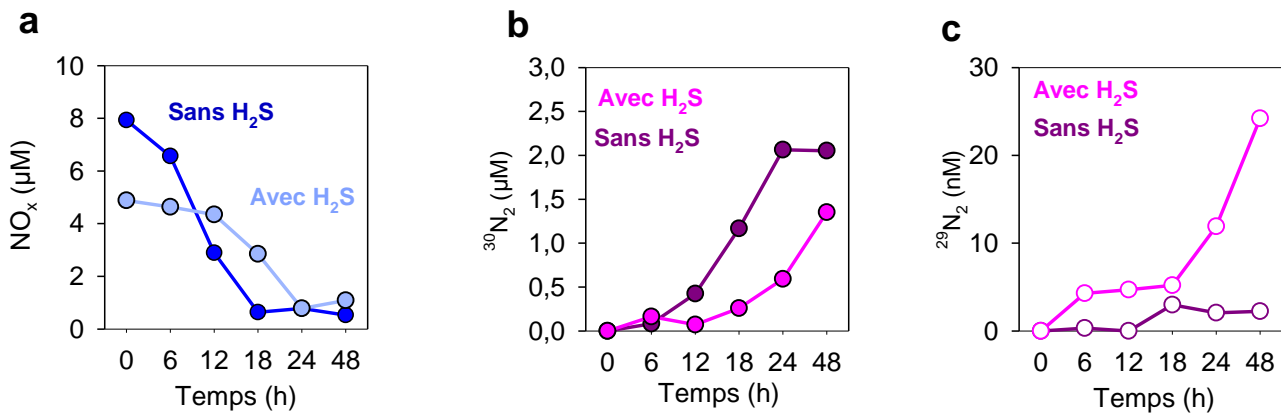


Figure 39 : Evolution des concentrations en NO_x (a), en ³⁰N₂ (b) et en ²⁹N₂ (c) au cours de l'expérience de mesure de la dénitrification sur 48h, pour la profondeur de 65 m à la station de Gisenyi.

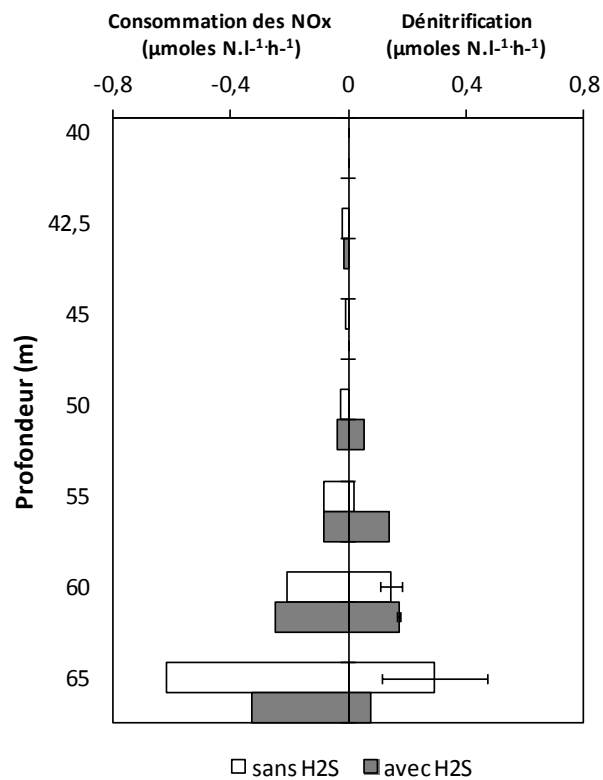


Figure 40 : Taux potentiels maximums de consommation des NO_x (en μM N/h) et de dénitrification (en μM N/h ; avec écart-types), avec et sans ajout de H₂S, au niveau de la station de Gisenyi.

A 60 m, sans ajout de molybdate, les concentrations en CH_4 , N_2O , NO_2^- et NO_3^- sont constantes au cours du temps, tandis que les concentrations en NH_4^+ présentent un pic de concentration à partir du 3^{ème} jour d'incubation (Figure 38a et b). De même, un pic de NH_4^+ est observé dans le traitement avec ajout de molybdate au 3^{ème} jour d'incubation (Figure 38g). Contrairement au traitement sans ajout de molybdate, des pics importants de N_2O , NO_2^- et NO_3^- sont observés lorsque du molybdate a été ajouté (Figure 38f et g). Les mesures de la dénitrification sur 48h ne montrent aucune différence significative entre les deux traitements, une diminution progressive mais rapide des concentrations en NO_x étant observée dans les deux cas, ainsi qu'une production importante et équivalente de $^{30}\text{N}_2$ (Figure 38c et d). Le taux de production de $^{29}\text{N}_2$ est par contre plus importante avec ajout de H_2S (Figure 38e).

A 65 m, seules les mesures de la dénitrification sur 48h ont été réalisées. Les concentrations en NO_x diminuent progressivement au cours du temps (Figure 39a). Comme pour la profondeur précédente, le traitement sans H_2S n'engendre pas une plus grande production de $^{30}\text{N}_2$ mais engendre par contre une production de $^{29}\text{N}_2$ plus importante (Figure 39b et c).

Comme pour la station d'Ishungu, on remarque que dans la plupart des cas, les taux potentiels maximums de disparition des NO_x sont largement supérieurs aux taux potentiels maximums de dénitrification (Figure 40). On remarque que les taux maximums de dénitrification sont supérieurs avec ajout de H_2S jusque la profondeur de 55 m. A 60 m, les taux sont presque égaux, tandis que le taux est largement supérieur sans ajout de H_2S à 65 m. Toutefois, au niveau de cette profondeur, rappelons que la quantité de NO_x ajoutée était plus importante (artefact expérimental).

2.3 Kabuno

A Kabuno, la forte ébullition des eaux chargées en CO_2 empêchent de mesurer de manière satisfaisante les concentrations en CH_4 et en CO_2 à l'interface oxygène-anoxique. De ce fait, seules les expériences visant à mesurer la dénitrification sur 48h ont été réalisées (Figure 41). A cette station, des traitements visant à mettre en évidence l'éventuel couplage entre la dénitrification et l'oxydation du Fe(II) ont également été réalisées via l'ajout d'un traitement avec ajout de Fe(II) . Les concentrations en NO_x , dans tous les cas, étaient inférieures à $1 \mu\text{M}$ et ne sont de ce fait pas présentées. Les taux maximums potentiels de la dénitrification sont présentés à la figure 42.

Aucune production de $^{30}\text{N}_2$ et de $^{29}\text{N}_2$ n'est observée aux profondeurs de 9,5, 10 et 10,5 m (Figure 41a-f), alors que des productions de $^{30}\text{N}_2$ et de $^{29}\text{N}_2$ sont observées aux profondeurs de 11 et 11,5 m (Figure 41g-j). Ces productions sont plus importantes dans les traitements avec ajout de Fe(II) mais restent toutefois faibles, comparativement aux productions observées à certaines profondeurs des autres stations échantillonnées. Un test ANOVA a été réalisé afin de confirmer si une différence significative est observée entre les traitements. D'après ces résultats statistiques, il y a un effet significatif du traitement où du Fe(II) a été ajouté sur les taux de production de $^{30}\text{N}_2$ (Figure 42) au niveau des profondeurs de 11 et 11,5 m (ANOVA-2, $F(1,4)=17.007$, $p=0.015$) et les taux de production de $^{30}\text{N}_2$ sont significativement différents entre ces deux profondeurs. (ANOVA-2, $F(1,4)=11.766$, $p=0.027$). De même, un effet significatif du traitement sur la production de $^{29}\text{N}_2$ est également observé (ANOVA-2, $F(1,4)=9.501$, $p=0.037$), ainsi que de la profondeur (ANOVA-2, $F(1,4)=43.470$, $p=0.003$).

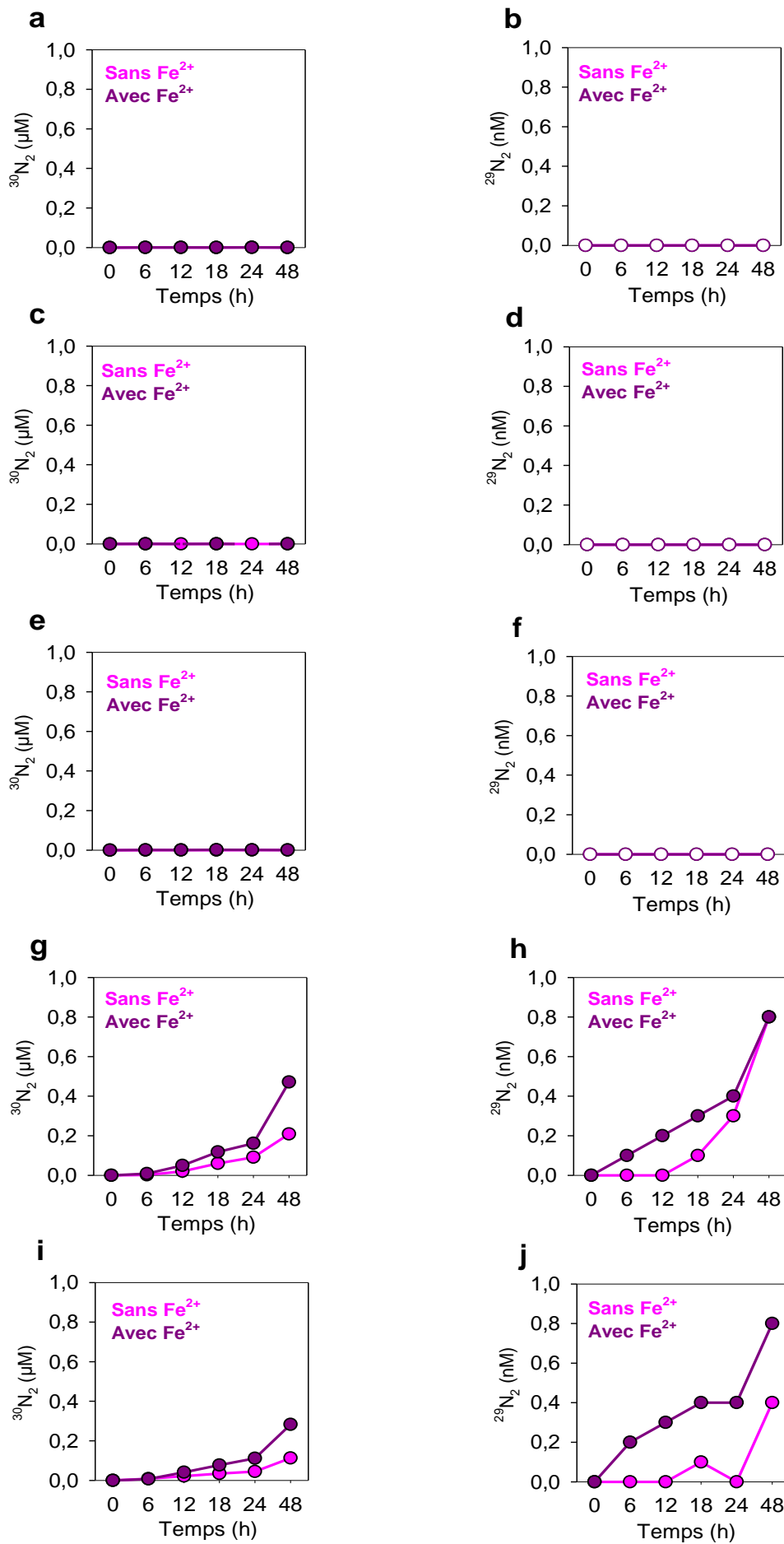


Figure 41 : Evolution des concentrations en $^{30}\text{N}_2$ (a, c, e, g, i) et en $^{29}\text{N}_2$ (b, d, f, g, j) durant l'expérience de mesure de la dénitrification à la station de Kabuno. (a-b) 9,5 m, (c-d) 10 m, (e-f) 10,5 m, (g-h) 11 m, (i-j) 11,5 m.

Contrôles environnementaux de la dénitrification

Les résultats des expériences visant à déterminer les contrôles environnementaux de la dénitrification réalisées à la station de Gisenyi sont présentés dans les figures 43 et 44.

La figure 43 illustre l'influence des concentrations en NO_3^- ajoutées sur les taux de consommation des NO_x et sur les taux de dénitrification totale (l'évolution des concentrations en NO_x et $^{30}\text{N}_2$ au cours du temps est présentée en Annexes, Figure A1). On remarque que les taux de consommation des NO_x sont directement proportionnels aux concentrations en $^{15}\text{NO}_3^-$ ajoutées. A 55 m, on remarque toutefois une plus faible consommation des NO_x qu'au niveau des autres profondeurs, et l'influence des concentrations en $^{15}\text{NO}_3^-$ semble moindre. On remarque également que les profils de consommation des NO_x au niveau des profondeurs de 60 m et de 65 m sont très similaires, conduisant à une même consommation en fonction de l'ajout en $^{15}\text{NO}_3^-$. Les taux de dénitrification sont également proportionnels à l'ajout de $^{15}\text{NO}_3^-$ et à la consommation des NO_x . En effet, à toutes les profondeurs, 1 $\mu\text{M}/\text{h}$ de NO_x consommé conduit à un taux de dénitrification de 0,5 $\mu\text{M}/\text{h}$.

La figure 44 présente les taux de consommation des NO_x et de dénitrification avec et sans ajout de matière organique. A 55 m, on remarque qu'aucune dénitrification n'est présente et que les taux de consommation des NO_x sont faibles lorsqu'il n'y a pas eu ajout de matière organique. Lorsque de la matière organique est ajoutée, les taux de consommation des NO_x et de dénitrification augmentent de manière considérable. Aux profondeurs suivantes, on remarque au contraire qu'une consommation relativement importante des NO_x et une dénitrification sont présentes sans ajout de matière organique. L'ajout de matière organique stimule ces taux mais de manière moins importante que pour la profondeur de 55 m. De manière générale, il y a un effet très hautement significatif de l'ajout de matière organique (ANOVA-2 ; $F_{1,6} = 621,064$; $p < 0,001$) et de la profondeur (ANOVA-2 ; $F_{2,6} = 47,227$; $p < 0,001$) sur les taux de dénitrification.

Fixation de l'azote atmosphérique

Les résultats des expériences de mesure de la fixation biologique de l' N_2 en fonction de l'irradiance lumineuse, pour les stations de Gisenyi et de Kabuno, sont présentés à la figure 45. Les résultats ne sont malheureusement pas disponibles pour la station d'Ishungu à cause d'un problème de manipulation des échantillons survenu sur le terrain.

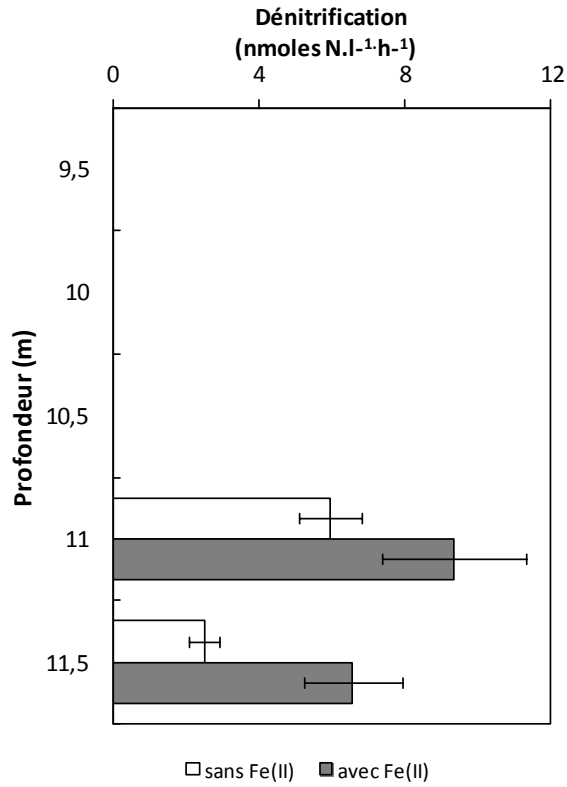


Figure 42 : Taux potentiels maximums de dénitrification (en nM N/h ; avec écart-types), avec et sans ajout de Fe(II), au niveau de la station de Kabuno.

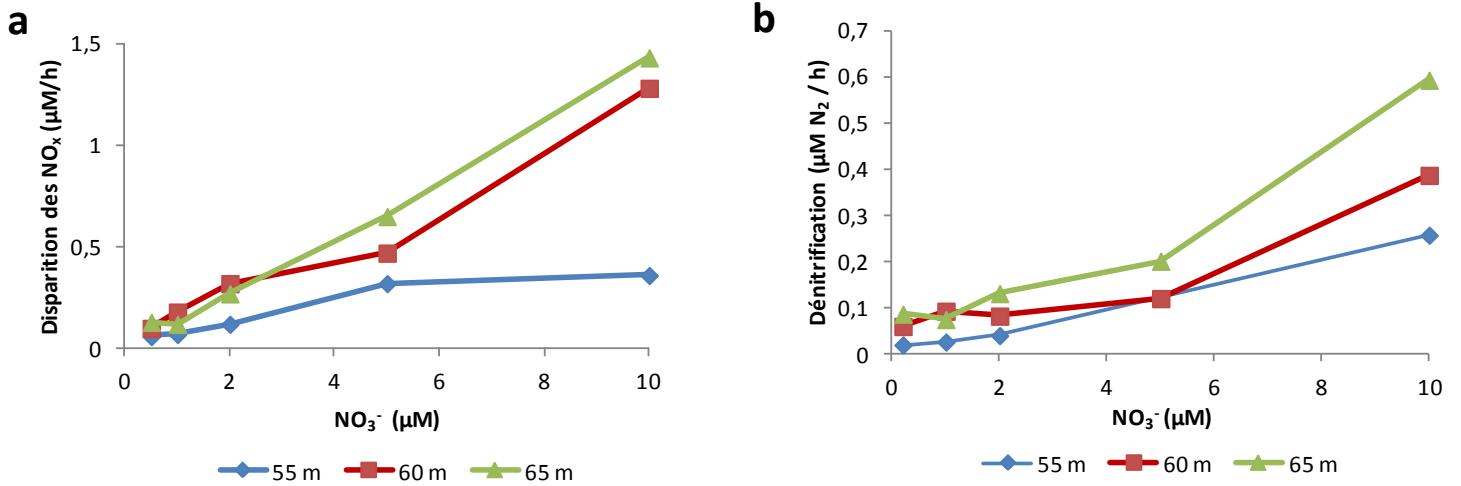


Figure 43 : Taux potentiels maximums de disparition des NO_x (en μM/h) (a) et de dénitrification (en μM N₂/h) (b) en fonction des concentrations en ¹⁵NO₃⁻ ajoutées, lors des mesures des contrôles environnementaux de la dénitrification à la station de Gisenyi.

En ce qui concerne la station de Gisenyi, on remarque que la fixation de l' N_2 augmente de manière constante avec l'irradiance lumineuse. A la station de Kabuno, la fixation augmente de manière constante en fonction de l'irradiance puis, contrairement à la station de Gisenyi, diminue. Notons également que la fixation de l' N_2 est plus importante, pour une même quantité de lumière reçue, à la station de Kabuno qu'à la station de Gisenyi.

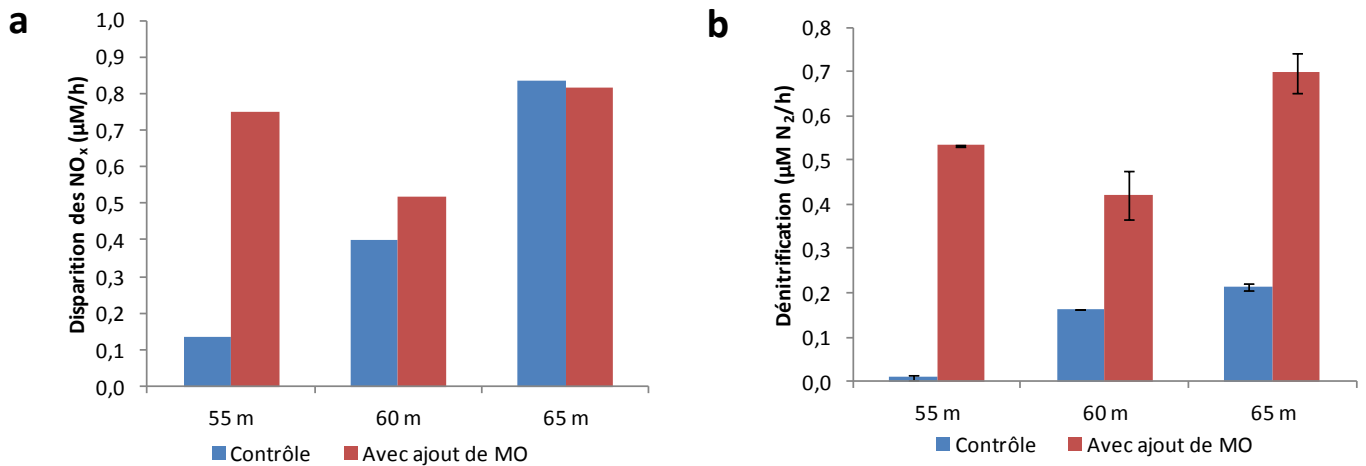


Figure 44 : Taux potentiels maximums de consommation des NO_x (en µM/h) (a) et de dénitrification (en µM N₂/h ; avec écart-types) (b) avec et sans ajout de matière organique, lors des mesures des contrôles environnementaux de la dénitrification à la station de Gisenyi.

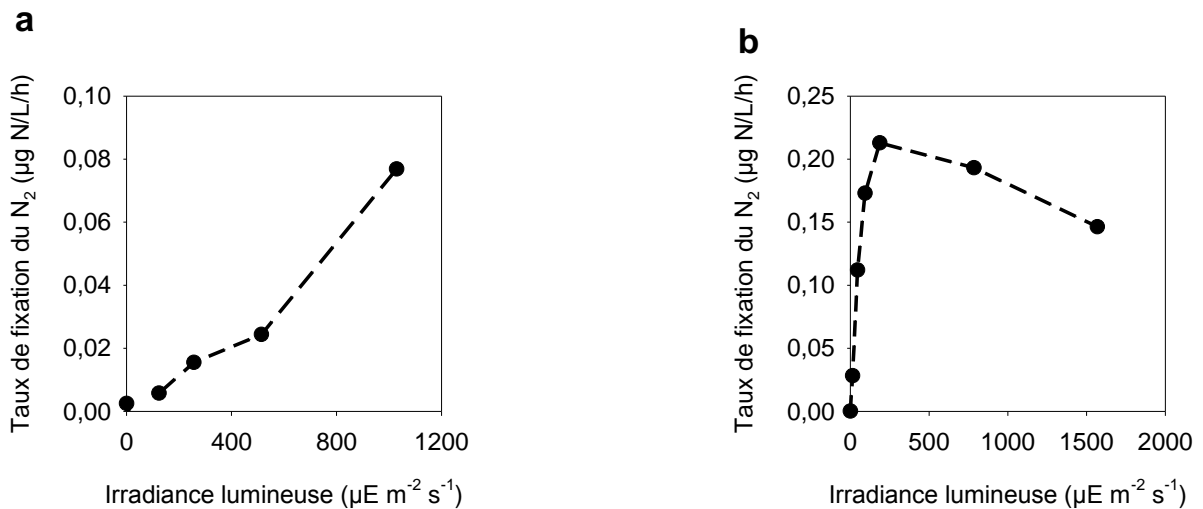


Figure 45 : Taux de fixation de l' N_2 (en µg N/L/h) en fonction de l'irradiance lumineuse reçue (en µE/m²/s) aux stations de Gisenyi (a) et de Kabuno (b).

Discussion

1.

Contexte de l'étude

Le lac Kivu est un lac oligotrophe (Descy et al. 2012). Les biomasses phytoplanctoniques y sont généralement faibles (autour de 2 $\mu\text{g Chl}a/\text{L}$) et sous le contrôle de la disponibilité en nutriments (Sarmiento et al. 2012). Ceux-ci sont principalement apportés lors de la saison sèche (de juin à septembre), lorsque les eaux profondes, plus riches en nutriments, sont en partie mélangées avec les eaux de surface (Sarmiento et al. 2006). Il s'ensuit un bloom de la biomasse phytoplanctonique, laquelle peut alors atteindre des concentrations supérieures à 4 $\mu\text{g Chl}a/\text{L}$ (Sarmiento et al. 2012), lui-même suivi d'un développement important du zooplancton herbivore (Darchambeau et al. 2012).

Notre étude s'est déroulée lors de la saison des pluies (janvier-février 2012). Lors de cette saison, suite au réchauffement des couches superficielles du lac, une stratification saisonnière se met en place à l'intérieur du mixolimnion (Schmid et Wuëst 2012). Ainsi, une thermocline, localisée autour de 30 m, était bien visible sur le profil physico-chimique réalisé à la station de Gisenyi. Celle-ci isolait une masse d'eau de surface bien oxygénée d'une masse d'eau plus profonde, anoxique dès 45 m (Figure 23). La thermocline, ainsi que l'oxycline, étaient moins marquées à la station d'Ishungu mais néanmoins un gradient de conditions physico-chimiques était nettement perceptible à l'intérieur du mixolimnion, avec des eaux oxiques en surface, suivi d'une diminution continue des concentrations en oxygène dissous sur les 50 premiers mètres, pour finir par observer des eaux anoxiques dès 50 m (Figure 23). La présence de cette stratification saisonnière du mixolimnion empêche le renouvellement en surface des nutriments depuis les eaux profondes, cela ayant pour conséquence que la biomasse phytoplanctonique qui peut s'y développer, estimée à environ 2 $\mu\text{g Chl}a/\text{L}$ au cours de notre étude (Figure 23), y est moindre qu'en saison sèche (Sarmiento et al. 2012).

Lors de la saison des pluies, la mort et la sédimentation du phytoplancton qui s'était développé en saison sèche approvisionne le bas de la colonne d'eau du mixolimnion en matière organique. Les températures élevées qu'on y trouve favorisent la dégradation de cette matière par des bactéries hétérotrophes aérobies. Celles-ci vont consommer l'oxygène dissous et ainsi appauvrir le bas du mixolimnion en oxygène. De plus, l' NH_4^+ issu de la dégradation de cette matière organique permet le développement d'une communauté nitrifiante importante, accentuant ainsi l'appauvrissement en oxygène du bas du mixolimnion (Llirós et al. 2012). De ce fait, si l'oxycline descend à 70 m de profondeur en saison sèche (Sarmiento et al. 2006), celle-ci remonte progressivement lors de l'avancée de la saison des pluies, pour se situer entre 30 et 40 m à la fin de

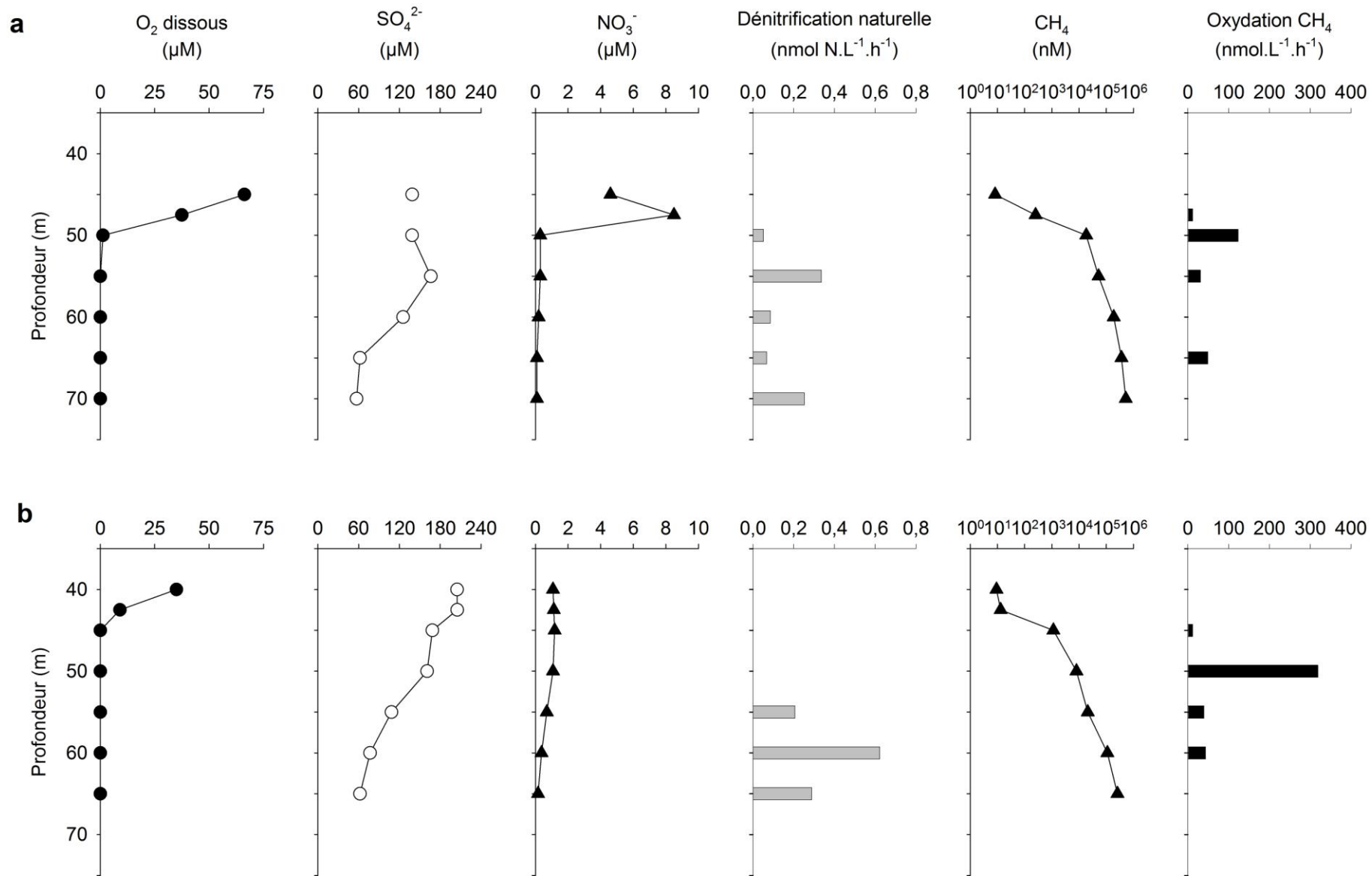


Figure 46 : Profils verticaux (de 45 à 70 m) des concentrations en oxygène, en SO_4^{2-} , NO_3^- et CH_4 , de la dénitrification naturelle et de l'oxydation du CH_4 au niveau des stations d'Ishungu (a) et de Gisenyi (b).

la saison des pluies (Llirós et al. 2012), situation que nous avons observée en février 2012 lors de notre étude.

En saison des pluies, il est fréquent de rencontrer une zone d'accumulation de NO_3^- et de NO_2^- (voir par exemple Wimba 2008, Llirós et al. 2010). Celle-ci est généralement située entre 30 et 40 m de profondeur, couvrant la zone de diminution des concentrations en O_2 , et présente des concentrations en NO_3^- montant jusqu'à $10 \mu\text{M}$ (Llirós et al. 2012). Cette zone d'accumulation de formes oxydées de l'N (nitracline) a également été observée lors de notre étude, aussi bien à la station d'Ishungu (sur une dizaine de mètres, avec une concentration maximum de $10 \mu\text{M}$) qu'à la station de Gisenyi (sur une vingtaine de mètres avec une concentration maximum de $4 \mu\text{M}$; Figure 23). Cette nitracline se met donc en place à la saison des pluies et disparaît ensuite à la saison sèche, lors du mélange saisonnier (Wimba 2008). Elle résulte de l'activité de bactéries et d'archées nitrifiantes (Llirós et al. 2010, Schmitz 2011).

La présence de cette nitracline va influencer considérablement les processus se déroulant au sein de la colonne d'eau. Ainsi, à la station d'Ishungu, la nitracline que nous avons observée est présente entre 45 et 55 m environ, tandis que l'anoxie totale de la colonne d'eau semble pouvoir s'observer à partir de 47,5-50 m de profondeur (Figures 23 et 46). La nitracline va donc influencer des processus aérobies et anaérobies, tels que la nitrification, la dénitrification hétérotrophe, l'anammox et la DNRA. Le pic de N_2O , intermédiaire important de la nitrification et de la dénitrification hétérotrophe, est, à la station d'Ishungu, centré sur 50 m de profondeur (Figure 23) et coïncide donc ainsi parfaitement avec la nitracline et avec l'interface oxique-anoxique. Les observations menées à la station de Gisenyi, quant à elles, montrent que les eaux deviennent anoxiques légèrement en-dessous de 40 m de profondeur (Figures 23 et 46), tandis que la nitracline est présente entre 30 et 50 m, avec un pic de N_2O à 50 m. De nouveau, la nitracline couvre des profondeurs à la fois oxiques et anoxiques, ce qui a pour conséquence une influence au niveau des processus aussi bien aérobies qu'anaérobies.

Si l'oxygène et les NO_3^- semblent avoir disparus dès 50 m de profondeur à la station d'Ishungu, les SO_4^{2-} restent eux présents encore quelques dizaines de mètres avant de disparaître à leur tour à partir de 100 m (Figures 23 et 46). La même situation est observée à la station de Gisenyi, avec une disparition complète de l'oxygène dès 45 m, des NO_3^- dès 55 m ($< 1 \mu\text{M}$) et des SO_4^{2-} seulement à partir de 80 m (Figures 23 et 46). Les H_2S eux remontent jusqu'à 50 m à Ishungu et jusqu'à 55 m à Gisenyi. Ainsi, à 50 m à Ishungu et à 55 m à Gisenyi, les conditions semblent réunies afin que la dénitrification hétérotrophe couplée à l'oxydation des H_2S puisse avoir lieu.

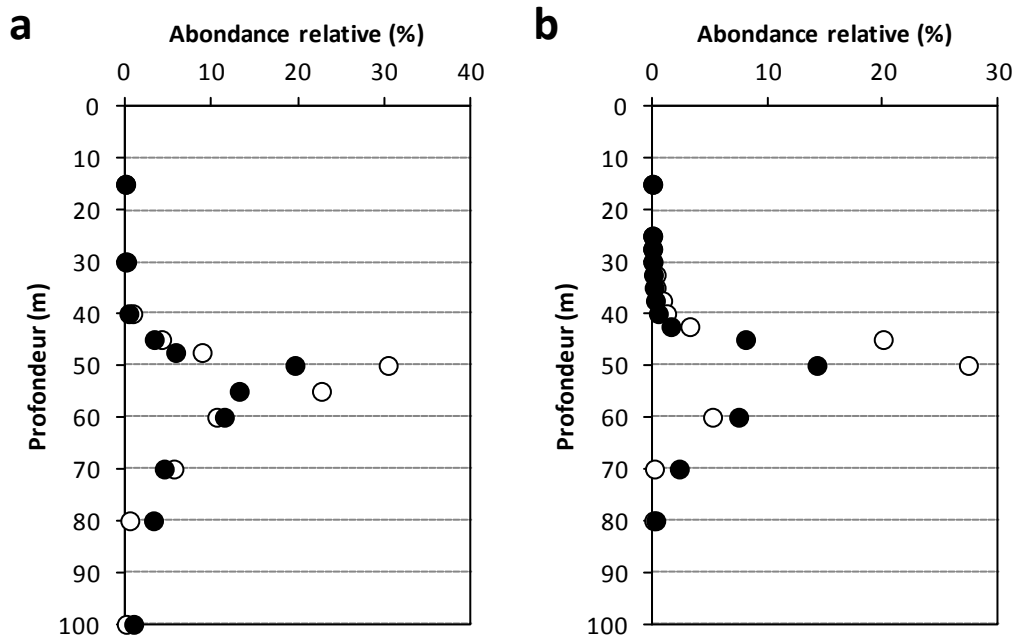


Figure 47 : Abondance relative de *Denitratisoma* sp. (cercles blancs) et de *Thiobacillus* sp. (cercles noirs) au sein des communautés bactériennes des stations d'Ishungu (a) et de Gisenyi (b) en février 2012. Résultats acquis par pyroséquençage du gène 16S du rDNA (Michiels 2012).

La dénitrification au lac Kivu

La dénitrification hétérotrophe est limitée par trois facteurs principaux : une concentration en oxygène trop élevée et des concentrations en NO_3^- (et/ou NO_2^-) et en matière organique trop faibles (Seitzinger et al. 2006). De ce point de vue, la dénitrification hétérotrophe au niveau du lac Kivu devrait avoir lieu de manière importante entre 50 et 70 m de profondeur, où les concentrations en oxygène et en NO_3^- peuvent être favorables. En effet, le pic de la nitracline se situe en moyenne au niveau de 45 m de profondeur mais les concentrations en oxygène peuvent encore constituer un élément limitant à cette profondeur. Néanmoins, les NO_3^- de la nitracline peuvent diffuser au niveau des profondeurs inférieures totalement anoxiques, favorisant ainsi le processus de la dénitrification.

Au cours de cette étude, nous avons en effet observé une dénitrification potentielle (issue de l'ajout initial de $^{15}\text{NO}_3^-$ et produisant du $^{30}\text{N}_2$) et naturelle (issue du $^{14}\text{NO}_3^-$ naturellement présent et produisant du $^{28}\text{N}_2$ et du $^{29}\text{N}_2$) à partir des profondeurs de 50 et de 55 m au niveau du bassin principal (stations d'Ishungu et de Gisenyi, respectivement, Figures 32, 40 et 46). Les taux potentiels de la dénitrification constituent une surestimation de la dénitrification qui pourrait avoir lieu au niveau du lac Kivu, étant donné que des ajouts ($5 \mu\text{M}$) de $^{15}\text{NO}_3^-$ ont été réalisés en début d'expérience. Au contraire, les taux de dénitrification naturelle que nous avons pu calculer au cours de cette étude (Figure 46) peuvent représenter une sous-estimation de la dénitrification réelle (Thamdrup et Dalsgaard 2002). En effet, lors de nos expériences, la dénitrification naturelle a été mesurée au sein de microenvironnements artificiels (les tubes Exetainer) non représentatifs de l'environnement réel. Premièrement, la diffusion naturelle des NO_3^- à partir de profondeurs adjacentes (par exemple à partir de la nitracline) ne peut pas avoir lieu au sein de ces microenvironnements. Deuxièmement, il est possible que, malgré les précautions prises, un apport d'oxygène atmosphérique ait eu lieu, contaminant ainsi les tubes Exetainer et limitant de ce fait la dénitrification.

Quoiqu'il en soit, une dénitrification hétérotrophe naturelle est bien présente au niveau du lac Kivu. Ces observations sont appuyées par l'observation au même moment dans la colonne d'eau d'une communauté bactérienne dénitrifiante au niveau des profondeurs anoxiques (Michiels 2012 ; les résultats complets du pyroséquençage sont présentés en Annexes). Au sein du lac Kivu, les bactéries dénitrifiantes sont principalement représentées par *Denitratisoma* et *Thiobacillus* (Michiels 2012). En février 2012, ces 2 espèces dominaient la communauté bactérienne aux profondeurs de 50 et 55 m à la station d'Ishungu et aux profondeurs de 45 et 50 m à la station de Gisenyi (Michiels 2012 ; Figure 47). Il ne s'agit pourtant pas des profondeurs où nous avons mesuré les plus forts taux de dénitrification naturelle (Figure 46) et potentielle (Figures 32 et 40). Ces différences peuvent s'expliquer par les artefacts expérimentaux énoncés ci-dessus, en particulier par l'isolement expérimental des micro-organismes dénitrifiants de leur source naturelle de substrat.

La dénitrification hétérotrophe peut également avoir lieu avec d'autres donneurs d'électrons que la matière organique, tels que les H_2S par exemple. Au niveau du bassin principal du lac Kivu, une

zone présentant un gradient $\text{SO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{S}$ important (de minimum 30 m d'épaisseur, selon nos observations) est présente à partir de 50 m de profondeur. Cette zone de réduction des SO_4^{2-} et/ou d'oxydation des H_2S approvisionne donc la colonne d'eau en éléments réducteurs H_2S , qui pourraient être utilisés par les organismes dénitrifiants comme donneurs d'électrons. Lors de notre étude, le couplage entre la réduction des NO_3^- et l'oxydation du H_2S a clairement été observée aux profondeurs de 55 m à la station d'Ishungu (il n'a pas été testé aux autres profondeurs) (Figure 32) et de 50 et 55 m à la station de Gisenyi (Figure 40), où des taux plus importants de dénitrification ont été observés en présence de H_2S . Ce type de dénitrification peut être réalisée par *Thiobacillus*, une bactérie dénitrifiante capable d'oxyder le S et le Fe, dont des populations relativement importantes ont été décelées au niveau de ces profondeurs (Michiels 2012, Figure 47). Ces observations démontrent que, à ces profondeurs, l'apport en matière organique pourrait être l'élément limitant la dénitrification hétérotrophe.

Toutefois, aux profondeurs de 60 et 65 m à la station de Gisenyi, on remarque que l'ajout de H_2S n'a plus d'effet sur la dénitrification (Figure 40). Cela suggère donc qu'à ces profondeurs, l' H_2S n'est plus préférentiellement utilisé comme donneur d'électrons, ce qui pourrait s'expliquer par le fait que la matière organique deviendrait un facteur moins limitant. Les résultats des contrôles environnementaux de la dénitrification ont d'ailleurs tendance à appuyer cette dernière hypothèse. En effet, on a vu lors des expériences des contrôles environnementaux de la dénitrification, qu'à 55 m, aucune dénitrification n'a lieu sans ajout de matière organique, contrairement aux profondeurs de 60 et 65 m (Figure 44b). L'effet de la concentration initiale en NO_3^- sur le taux de dénitrification est également plus important au niveau de ces dernières profondeurs qu'au niveau de la profondeur de 55 m (Figure 43b). Ceci suggère donc qu'à 55 m, où la nitracline est encore légèrement présente, le facteur limitant la dénitrification hétérotrophe est la matière organique, tandis qu'aux profondeurs suivantes, les NO_3^- deviennent le facteur limitant. De ce fait, la matière organique étant moins limitante au niveau des profondeurs de 60 et 65 m, l'ajout de H_2S n'a aucun effet sur la dénitrification, les organismes utilisant préférentiellement la matière organique comme donneurs d'électrons au vu de son efficacité plus importante.

La dénitrification seule ne permet toutefois pas toujours d'expliquer l'entière des taux de disparition des NO_x . En effet, au niveau notamment des profondeurs de 60 et 65 m des stations d'Ishungu et de Gisenyi, on remarque que les taux de consommation des NO_x valent plus du double des taux de dénitrification (exprimés en moles de N ; Figures 32 et 40). Un autre processus consommant des NO_x en anaérobiose doit donc intervenir.

Il pourrait s'agir de la DNRA. La DNRA est en effet favorisée dans les environnements riches en matière organique et pauvres en NO_3^- (Burgin et Hamilton 2007). Au niveau de la station de Gisenyi, elle aurait donc tendance, selon les expériences des contrôles environnementaux de la dénitrification, à être favorisée aux profondeurs de 60 et 65 m, ce qui pourrait expliquer la consommation accrue des NO_x observée à ces profondeurs. De plus, *Vibrio*, une bactérie capable de réaliser la DNRA (Simon 2002, Burgin et Hamilton 2007) et des SRB (qui sont également capables de réaliser la DNRA ; Burgin et Hamilton 2007, Kirchman et al. 2008) sont présentes à ces profondeurs (Michiels 2012).

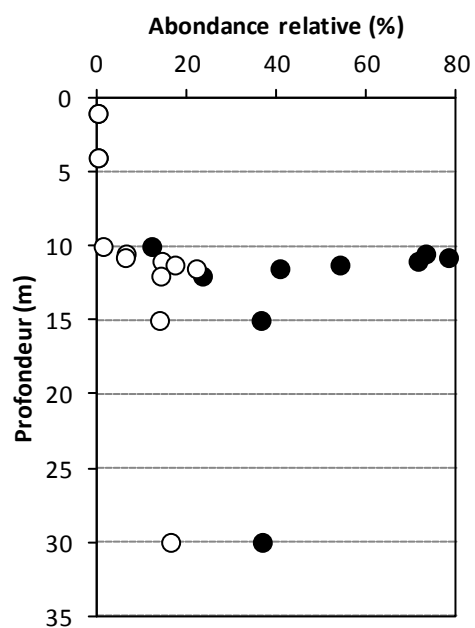
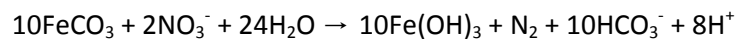


Figure 48 : Abondance relative de *Chlorobium ferroxidans* (cercles noirs) et de *Geobacter* sp. (cercles blancs) au sein des communautés bactériennes de la station de Kabuno en février 2012. Résultats acquis par pyroséquençage du gène 16S du rDNA (Michiels 2012).

La dénitrification hétérotrophe, l'oxydation des H₂S couplée à la dénitrification et la DNRA sont donc des processus importants ayant lieu au sein du lac Kivu, bien que des expériences supplémentaires soient nécessaires pour la DNRA. Une autre observation importante a également été réalisée au niveau de Kabuno, permettant d'affirmer avec quasi certitude qu'une autre forme de couplage entre les cycles biogéochimiques a lieu au niveau du lac Kivu.

A la station de Kabuno, on a en effet observé qu'en anaérobie (c'est-à-dire aux profondeurs de 11 et 11,5 m), l'addition de Fe(II) stimule de manière statistiquement significative la dénitrification (Figure 42), suggérant donc fortement que la dénitrification couplée à l'oxydation du Fe puisse avoir lieu à ces profondeurs.

Bien que ce processus ait déjà pu être observé en culture (Straub et al. 1996), il est encore relativement peu connu. L'oxydation du fer ferreux (Fe²⁺) en fer ferrique (Fe³⁺) par les NO₃⁻ est un processus supposé se dérouler selon la réaction suivante (Straub et al. 1996), où les NO₃⁻ servent d'accepteurs d'électrons (Straub et al. 2004) :



Cette oxydation du Fe couplée à la réduction des NO₃⁻ et à la production de N₂ se déroule en anaérobie (Straub et al. 1996). Elle peut avoir lieu en utilisant le NO₃⁻, le NO₂⁻ ou le N₂O comme accepteurs terminaux d'électrons (Straub et al. 2004).

Des analyses de pyroséquençage ont permis de déterminer la présence importante (71 % et 41 % de l'abondance bactérienne respectivement à 11 et 11,5 m, Figure 48) de *Chlorobium ferrooxydans* au même moment à la station de Kabuno (Michiels 2012). *Chlorobium ferrooxydans* est une bactérie phototrophique oxydatrice du Fe (Heising et al. 1999), ce qui a tendance à démontrer le fait qu'une oxydation du Fe puisse avoir lieu à ces profondeurs. Toutefois, *Chlorobium ferrooxydans* n'est pas une bactérie dénitrifiante, ce qui laisse supposer qu'elle pourrait réaliser l'oxydation du Fe en association avec une autre bactérie. Au niveau de ces profondeurs, on observe la présence relativement importante de *Geobacter* sp. (Michiels 2012 ; Figure 48), une bactérie capable d'utiliser les NO₃⁻ comme accepteurs finaux d'électrons (Weber et al. 2006), mais est-elle capable de les dénitrifier ? Une étude a montré la présence d'une enzyme « nitrate reductase » chez certaines espèces de *Geobacter* sp., bien que cette enzyme soit différente, d'un point de vue structurel, de celle rencontrée chez les bactéries dénitrifiantes (Murillo et al. 1999). Toutefois, selon cette même étude, la réduction du NO₃⁻ chez *Geobacter* sp. produit du NH₄⁺ (il s'agit d'une DNRA) et non pas du N₂. *Geobacter* sp. ne permettrait donc pas la réduction des NO₃⁻ en N₂. Notons cependant qu'il s'agit d'une bactérie réductrice du Fe bien connue et pourrait donc compléter le cycle du Fe au niveau de la baie de Kabuno. D'autres bactéries présentes au niveau de ces profondeurs telles que *Azoarcus* et *Rhodobacter* (bien que leur abondance relative soit moins importante, 2 % en moyenne ; Michiels 2012), sont des bactéries dénitrifiantes clairement identifiées comme telles dans la littérature (Zumft 1997).

Une association entre *Chlorobium ferrooxydans* et une bactérie dénitrifiante afin de réaliser l'oxydation du Fe couplée à la réduction des NO₃⁻ semble donc une hypothèse plausible pour expliquer les observations réalisées au niveau de la station de Kabuno. Cette hypothèse devrait

cependant être confirmée par la mise en culture et la mesure des processus biochimiques réalisés par ces micro-organismes.

3.

Le couplage avec l'oxydation du CH₄

Outre les processus liés cycle seul de l'N, la nitracline pourrait également permettre l'oxydation du CH₄ couplée à la réduction des NO₃⁻. Pour rappel, trois processus biochimiques d'oxydation du CH₄ sont connus à ce jour :

- 1) l'oxydation aérobie du CH₄,
- 2) l'oxydation anaérobie du CH₄ utilisant le SO₄²⁻ comme accepteur d'électrons,
- 3) l'oxydation anaérobie du CH₄ utilisant le NO₃⁻ comme accepteur d'électrons.

La figure 46 permet de comparer les profils d'oxydation du CH₄ et les profils en oxygène, SO₄²⁻ et NO₃⁻, et la dénitrification naturelle (c'est-à-dire la dénitrification mesurée non dépendante des concentrations en ¹⁵NO₃⁻ ajoutées). Au niveau des deux stations, on remarque que le pic d'oxydation du CH₄ se situe à 50 m de profondeur, tandis que le pic de dénitrification naturelle est présent à 55 m. La non correspondance des pics a donc tendance à suggérer que l'oxydation du CH₄ couplée à la dénitrification n'a pas lieu. De plus, les taux de dénitrification naturelle sont extrêmement faibles (< 1 nmol N.L⁻¹.h⁻¹) en regard des taux d'oxydation anaérobie du CH₄ (quelques dizaines à quelques centaines de nmol.L⁻¹.h⁻¹). Les rapports stœchiométriques théoriques de l'oxydation anaérobie du CH₄ par les NO₃⁻ montrent que 8 moles de NO₂⁻ ou de NO₃⁻ sont dénitrifiées lors de l'oxydation de 3 ou 5 moles de CH₄ (Raghoebarsing et al. 2006, Ettwig et al. 2008). Ainsi, les taux d'oxydation anaérobie du CH₄ observés dans notre étude ne peuvent être expliqués par les faibles taux de dénitrification naturelle observés (Figure 46).

Par contre, on remarque que les concentrations en SO₄²⁻ sont très élevées à 50 m (de l'ordre de 200 μM), tandis que les concentrations en NO₃⁻ restent faibles malgré la nitracline (de l'ordre de quelques 10 μM) (Figure 46). Au vu de ces concentrations importantes en SO₄²⁻, il y a une plus grande probabilité que l'oxydation anaérobie du CH₄ soit, au lac Kivu, couplée à la réduction des SO₄²⁻ (Pasche et al. 2011), malgré le fait que les SO₄²⁻ soient un accepteur d'électrons moins énergétiquement favorable que les NO₃⁻ (Burgin et al. 2011).

Pourquoi l'anammox est-elle absente ?

Lors des mesures de la dénitrification sur 48 h, de faibles quantités de $^{29}\text{N}_2$ ont été produites. Celui-ci peut provenir soit de la dénitrification hétérotrophe (par combinaison d'une molécule de $^{14}\text{NO}_3^-$ naturellement présente avec une molécule de $^{15}\text{NO}_3^-$ ajoutée initialement comme traceur), soit d'un processus anammox (par combinaison d'une molécule de $^{14}\text{NH}_4^+$ naturellement présente avec une molécule de $^{15}\text{NO}_3^-$ ajoutée initialement) (Thamdrup et Dalsgaard 2002). L'importance relative des 2 processus dans la production de $^{29}\text{N}_2$ peut être calculée au moyen de la production simultanée de $^{30}\text{N}_2$ (produit seulement par la dénitrification hétérotrophe) (Thamdrup et Dalsgaard 2002). Ainsi, dans le cas de nos expériences, l'ensemble de la production de $^{29}\text{N}_2$ a pu être expliquée par la dénitrification hétérotrophe. Nous pouvons dès lors conclure que le processus d'anammox n'a jamais pu être observé dans l'ensemble des expériences de dénitrification/anammox que nous avons réalisées. Nos résultats suggèrent donc fortement l'absence d'anammox au niveau du lac Kivu.

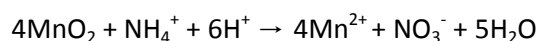
Pourtant, les conditions propices à l'observation de l'anammox semblaient a priori rencontrées au Lac Kivu : des concentrations faibles, mais suffisantes, de NO_3^- en zone anoxique, en commun avec du NH_4^+ diffusant depuis les eaux profondes, et la présence dans les eaux profondes de bactéries Planctomycètes habituellement responsables de l'anammox (Michiels 2012). Pourquoi dès lors l'anammox n'a pas pu être observée dans les eaux du lac Kivu, contrairement au lac Tanganyika (Schubert et al. 2006b) ?

Ces bactéries anammox ont un métabolisme très lent (Strous et al. 1999). Or, le haut de la colonne d'eau du lac Kivu est un environnement peu stable, l'oxycline se déplaçant de plusieurs dizaines de mètres en quelques mois, entre la saison sèche et la saison des pluies (Schmid et Wüest 2012, Llíros et al. 2012), ce qui pourrait limiter le développement des bactéries anammox (Jensen et al. 2009). De plus, il a été démontré récemment que la présence de H_2S à des concentrations de quelques μM joue un rôle inhibitoire sur l'activité des anammox (Jensen et al. 2009). Or, à la station d'Ishungu, des concentrations de $5 \mu\text{M}$ de H_2S étaient déjà observées à 55 m de profondeur, juste en-dessous de la nitracline, et des concentrations de $25 \mu\text{M}$ de H_2S étaient observées à 60 m de profondeur. Ainsi, la présence de H_2S assez haut dans la colonne d'eau du lac Kivu ne permettrait pas aux bactéries réalisant l'anammox de s'y développer, contrairement à ce qui a pu être observé au lac Tanganyika (Schubert et al. 2006b). Dans ce dernier, l'anammox représente jusqu'à 13 % du N_2 produit (le reste l'étant par dénitrification hétérotrophe) et a principalement lieu au milieu de la nitracline, à l'interface oxygène-anoxique, vers 100 m de profondeur (Schubert et al. 2006b). A cette profondeur, aucun H_2S n'est présent puisque les premières traces ne peuvent être détectées que vers 175 m (Edmond et al. 1993), expliquant ainsi pourquoi l'anammox peut être présente au lac Tanganyika et non au lac Kivu.

La nitrification anaérobique est-elle présente ?

Un autre résultat remarquable issu de nos expérimentations est la production de NO_3^- et de NO_2^- et la consommation de NH_4^+ en conditions anoxiques dans les incubations de 5 jours avec inhibition de l'activité des SRB (traitement avec ajout de molybdate). Ce phénomène a pu être observé aux profondeurs de 50, 55, 60 et 65 m à la station d'Ishungu (Figure 27 à 30) et aux profondeurs de 50, 55 et 60 m à la station de Gisenyi (Figures 36 à 38). Ces productions de NO_2^- et de NO_3^- , avec une consommation parallèle de NH_4^+ , peuvent être le signe d'un processus de nitrification. Aux profondeurs où il se déroule, celui-ci doit être anoxique. Une explication pourrait être que les échantillons ayant servi à ces incubations aient été, au moment de leur prélèvement, contaminés par un apport d'oxygène atmosphérique. Ainsi, la nitrification observée serait aérobie et résulterait d'une erreur expérimentale. Cependant, la répétition de cette observation et le fait qu'elle n'ait lieu que dans les traitements avec ajout inhibition de l'activité des SRB nous laisse penser que le processus observé est réel.

La nitrification anaérobique est un processus encore très peu connu actuellement. Une forme de nitrification anaérobique possible est une réaction avec du MnO_2 (Thamdrup et Dalsgaard 2000), selon la réaction théorique suivante (Hulth et al. 1999) :



Ensuite, en anaérobie, la dénitrification peut avoir lieu, avec les différents donneurs d'électrons possibles (matière organique, NH_4^+ , Fe^{2+} , H_2S), afin de former du N_2 , en passant par le N_2O comme intermédiaire.

Si l'on regarde les profils en Mn (Figure 19), on remarque que les concentrations augmentent à partir de la profondeur de 50 m. La réduction du Mn couplée à l'oxydation anaérobique du NH_4^+ pourrait donc expliquer les observations réalisées lors des incubations de 5 jours avec ajout de molybdate, où des pics de NO_3^- , NO_2^- , N_2O et une consommation des NH_4^+ sont observés à partir de la profondeur de 50 m. Toutefois, pourquoi cette réaction n'aurait-elle lieu qu'en inhibant l'activité des SRB ? Les SRB réduisent les SO_4^{2-} en H_2S . En inhibant l'activité de ces bactéries, les H_2S ne sont donc pas produits. Or, comme nous l'avons vu précédemment, les H_2S peuvent être utilisés par les bactéries dénitrifiantes pour produire du N_2 à partir des NO_3^- , en passant par le N_2O . Si on inhibe les SRB, ces H_2S pourraient ne plus être en quantité suffisante, et les différentes phases de la dénitrification pourraient être inhibées. En d'autres termes, sans ajout de molybdate, les NO_3^- produits par la nitrification anaérobique pourraient ensuite être dénitrifiés par les H_2S , tandis qu'en présence de molybdate, il y aurait accumulation de NO_3^- , de NO_2^- et de N_2O à cause de l'inhibition de la dénitrification.

Un autre type de nitrification anaérobique possible est la formation de NO_2^- à partir de NH_4^+ par le Fe(III). La réaction théorique de ce processus est la suivante (Clément et al. 2005) :

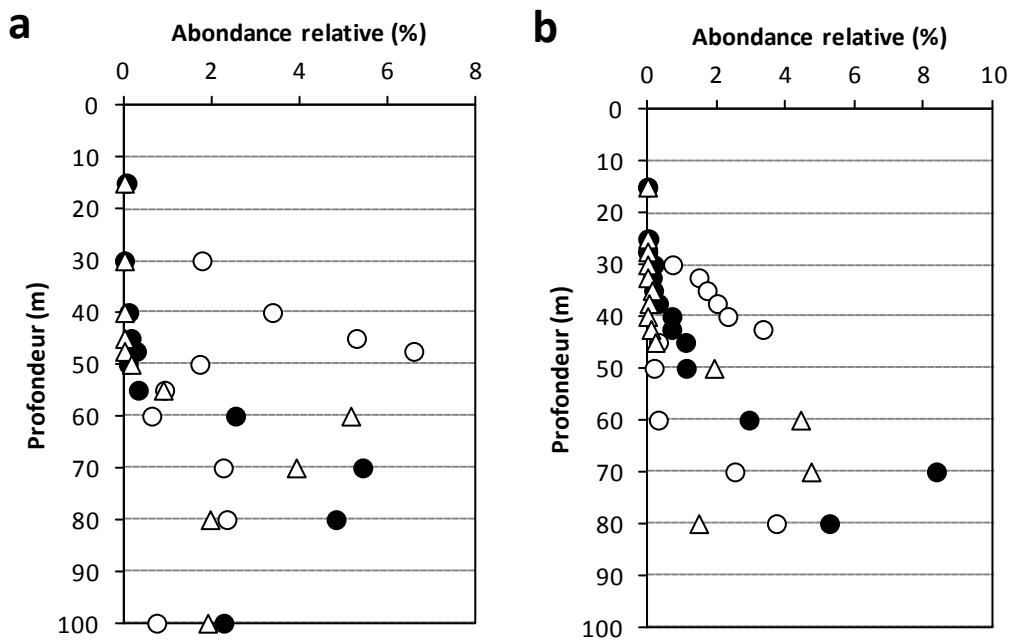
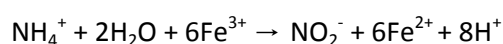


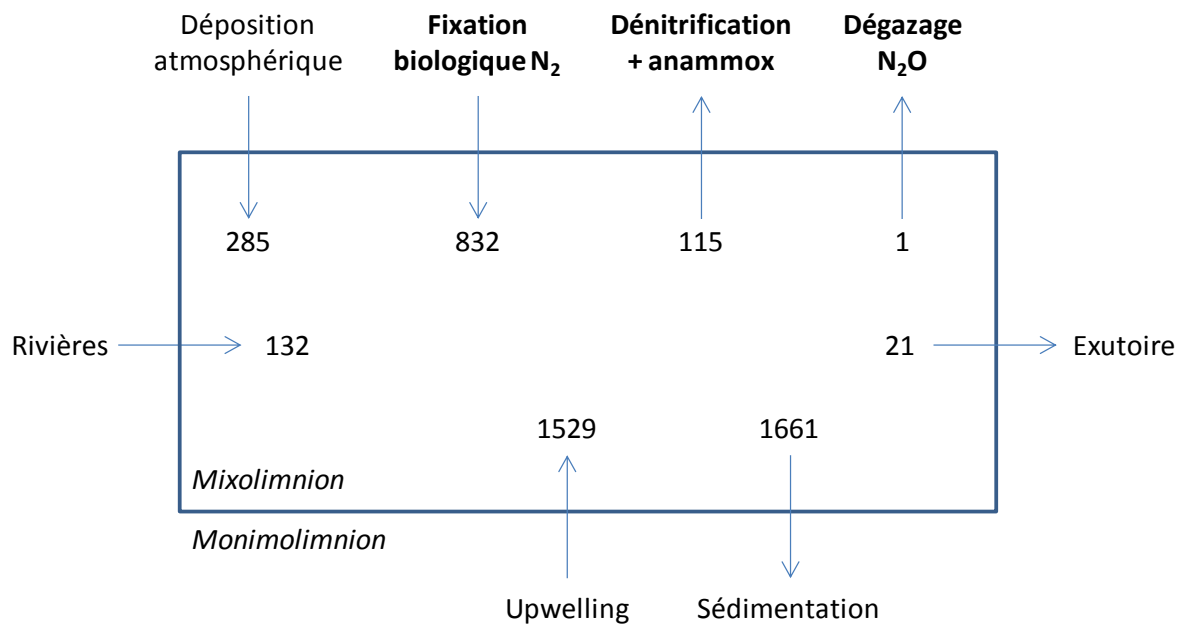
Figure 49 : Abondance relative de *Nitrospira* sp. (cercles blancs), *Geobacter* sp. (cercles noirs) et *Bacillus* sp. (triangles blancs) au sein des communautés bactériennes des stations d'Ishungu (a) et de Gisenyi (b) en février 2012. Résultats acquis par pyroséquençage du gène 16S du rDNA (Michiels 2012).



Cette réaction est thermodynamiquement favorable et pourrait également produire des NO_3^- à la place des NO_2^- . Tout comme dans le cas du couplage avec le Mn, l'accumulation de NO_3^- lorsqu'il y a inhibition des SRB pourrait être due à l'inhibition de la dénitrification par absence d'une quantité suffisante de H_2S .

En résumé, une hypothèse que l'on peut avancer pour expliquer nos observations est que la nitrification anaérobie a lieu avec ou sans inhibition de l'activité des SRB, mais qu'elle ne serait visible, avec les expériences réalisées au cours de cette étude, qu'en présence de molybdate, à cause de l'inhibition (ou du moins de la limitation) de la dénitrification hétérotrophe. L'inhibition de l'activité des SRB influencerait donc la dénitrification hétérotrophe, et non la nitrification anaérobie.

La dénitrification couplée à l'oxydation des H_2S a déjà été observée précédemment à ces profondeurs. Elle peut être réalisée notamment par *Thiobacillus* (Canfield et al. 2005), qui, on l'a vu, est présente à ces profondeurs (Figure 47). Des SRB ont également été décelées à ces profondeurs (Michiels 2012), suggérant donc que la réduction des SO_4^{2-} en H_2S a lieu. Toutefois, quel organisme pourrait être capable de réaliser la nitrification anaérobie ? La présence de *Nitrospira* a également été décelée à ces profondeurs, bien qu'en effectifs réduits (Michiels 2012 ; Figure 49). *Nitrospira* est une bactérie nitrifiante dont certaines espèces ne sont pas aérobies strictes et peuvent modifier leur métabolisme quand elles sont placées en anaérobie (Ehrich et al. 1995). De ce fait, *Nitrospira* pourrait réaliser la nitrification anaérobie, ce qui consommerait des NO_3^- et produirait du Mn^{2+} ou du Fe^{2+} . Les SRB, quant à elles, réduiraient les SO_4^- en H_2S , ceux-ci pouvant ensuite être utilisés par *Thiobacillus*, ainsi que les NO_3^- produits par la nitrification anaérobie, pour réaliser la dénitrification couplée à l'oxydation des sulfures. La question qui se pose maintenant est de savoir si *Nitrospira* est capable de réduire le MnO_2 ou le Fe^{3+} ou si elle doit s'associer avec une autre bactérie pour réaliser la nitrification anaérobie. On trouve relativement peu d'informations sur ce sujet dans la littérature. Parmi les bactéries capables de réduire le MnO_2 et le Fe(III) , on trouve notamment *Geobacter* et *Bacillus* à ces profondeurs (Michiels 2012 ; Figure 49).



Somme entrées = 2778 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{j}^{-1}$
 Somme sorties = 1796 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{j}^{-1}$
 Différence = 982 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{j}^{-1}$

Figure 50 : Bilan des flux en N (en $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{j}^{-1}$) au niveau du mixolimnion du lac Kivu. Les processus en gras représentent les processus mesurés lors de ce travail. Les autres processus ont été estimés par Pasche et al. (2012).

La figure 50 présente le bilan des flux en N dans le mixolimnion du lac Kivu. Les processus en gras sont les taux que nous avons nous-mêmes mesurés au cours de cette étude. Les autres processus ont été estimés par Pasche et al. (2012).

On distingue quatre flux d'entrée en N dans le mixolimnion : les rivières (le bassin versant du lac Kivu est relativement important, avec plus de 100 rivières s'y déversant ; Muvundja et al. 2009), la déposition atmosphérique, la fixation biologique de l' N_2 et l'upwelling. L'apport principal d'N dans le mixolimnion provient de ce dernier. En effet, les eaux du monimolimnion sont riches en substances dissoutes, dont l' NH_4^+ . Le débit des sources profondes, situées dans le monimolimnion, provoque une lente remontée des eaux qui sont situées au-dessus de leur point d'entrée dans le lac (Schmid et al. 2005). Ainsi, cette vitesse de remontée de toute la colonne d'eau est estimée à 0,5 m par an à 100 m de profondeur (Wuëst et al. 2012). Cet upwelling, ou remontée d'eaux profondes, contribue ainsi à apporter de manière continue des nutriments, dont l'N, en surface. Comparativement, les entrées d'N par les rivières du bassin versant et par la déposition atmosphérique sont faibles (Pasche et al. 2012).

Dans le bilan en N du mixolimnion du lac Kivu publié récemment par Pasche et al. (2012), un flux d'entrée manquait : la fixation biologique de l' N_2 . Ce taux a pu être estimé à la station de Kabuno et à la station de Gisenyi lors de notre étude. Nous avons ainsi pu calculer un taux de fixation surfacique de N_2 pour la station de Gisenyi (située dans le grand lac) égale à $832 \mu\text{mole N m}^{-2} \text{ j}^{-1}$. Ce taux semble relativement élevé si on le compare au taux mesuré au niveau du lac Malawi (environ $40 \mu\text{mole N m}^{-2} \text{ j}^{-1}$; Gondwe et al. 2008) mais rentre tout à fait dans la fourchette des taux observés au lac Victoria ($350\text{-}4500 \mu\text{mole N m}^{-2} \text{ j}^{-1}$; Muggide et al. 2003). Cependant, la biomasse phytoplanktonique est beaucoup plus élevée au lac Victoria ($25\text{-}50 \mu\text{g Chla/L}$) qu'au lac Malawi (environ $1 \mu\text{g Chla/L}$) ou au lac Kivu (environ $2 \mu\text{g Chla/L}$) (Sarmiento et al. 2012). Ainsi, notre estimation, unique, de la fixation de l' N_2 par les cyanobactéries fixatrices au lac Kivu semble relativement haute. Il faut cependant reconnaître que l'estimation des taux de fixation de l' N_2 est une mesure relativement complexe, qui peut conduire facilement à des sous-estimations ou surestimations. Ainsi, par exemple, nous avons vu au cours de notre étude que la mesure de la fixation de l' N_2 au niveau de la station de Gisenyi ne montre jamais de saturation, même aux irradiances les plus élevées. Cela peut s'expliquer par le fait qu'au niveau de cette station, la mesure n'a pas été réalisée dans des conditions optimales d'éclairement ; la mesure a été faite entre 13 et 15 h au lieu d'être faite entre 11 et 13 h, moment du zénith.

Les flux d'entrée en N dans le mixolimnion sont en théorie compensés par les flux de sortie. Ils sont au nombre de quatre : l'exutoire (un seul exutoire est présent au niveau du lac Kivu : la rivière Ruzizi), la sédimentation, la dénitrification et/ou anammox, et le dégazage vers l'atmosphère de N_2O . Le flux de perte par sédimentation d'N a pu être estimé par Pasche et al. (2012) en collectant et mesurant le flux des particules en sédimentation dans des trappes. Ce flux par sédimentation a été

estimé, pour l'N, à $1661 \mu\text{moles m}^{-2} \text{j}^{-1}$ (Pasche et al. 2012) et semble constituer le flux de pertes en N le plus important pour le mixolimnion. Notre étude a permis de quantifier l'importance des flux de sortie par la dénitrification et/ou anammox et par le dégazage du N_2O pour la campagne de février 2012. La mesure des concentrations en N_2O sous la surface aux stations d'Ishungu et de Gisenyi (environ 7 nM) permettent d'estimer le flux de dégazage atmosphérique de N_2O à approximativement $1 \mu\text{mole m}^{-2} \text{j}^{-1}$. Les mesures de la dénitrification naturelle réalisées aux 2 stations du grand lac permettent d'estimer le taux de dénitrification sur l'ensemble de la colonne d'eau à 95 et $134 \mu\text{moles N m}^{-2} \text{j}^{-1}$ respectivement aux stations d'Ishungu et de Gisenyi, soit $115 \mu\text{moles N m}^{-2} \text{j}^{-1}$ en moyenne.

Nous remarquons donc que notre bilan des flux de N au niveau du lac Kivu n'est pas à l'équilibre, les entrées étant plus importantes que les sorties d'environ $982 \mu\text{moles N m}^{-2} \text{j}^{-1}$. Ce type de déséquilibre devrait donc conduire à une eutrophisation rapide du mixolimnion du lac Kivu, ce qui n'est assurément pas le cas (Sarmiento et al. 2012). Cela laisse donc supposer que notre bilan présente des chiffres incorrects. Nous avons évoqué ici plus haut la difficulté d'obtenir un taux correct de fixation de l' N_2 et le fait que le taux obtenu semblait haut par rapport par exemple aux estimations faites au lac Malawi. De plus, le chiffre présenté est basé sur une seule mesure dans le grand lac et devrait dès lors être répétée, à divers endroits et à diverses périodes. Nous avons également évoqué le fait que la dénitrification naturelle mesurée devait vraisemblablement représenter une sous-estimation du taux réel étant donné les conditions d'isolement inhérentes à l'expérimentation dans lesquelles elles ont été réalisées (l'emploi de tubes Exetainer), privant les bactéries dénitrifiantes de leur source naturelle de NO_3^- en cours d'incubation. Ainsi, étant donné l'importance des taux de la fixation biologique d' N_2 et de la dénitrification dans la balance en N, une surestimation de l'un ajoutée à une sous-estimation de l'autre peut facilement conduire au déséquilibre de la balance que nous observons.

Conclusions et perspectives

Notre étude est la première visant à quantifier un certain nombre de processus clés du cycle de l'N au niveau du lac Kivu, l'un des plus grands lacs d'Afrique. Nous avons ainsi observé et quantifié la dénitrification hétérotrophe potentielle et naturelle. Cette dernière est cependant largement sous-estimée au cours de nos expériences, étant donné que les taux ont été mesurés au niveau d'environnements artificiels, empêchant donc les phénomènes de diffusion des NO_3^- à partir des profondeurs adjacentes d'avoir lieu. Certaines de nos observations suggèrent également que la DNRA pourrait être un processus important au niveau du lac Kivu. La dénitrification seule ne peut en effet, à certaines profondeurs, expliquer les quantités importantes de NO_3^- consommées. Des mesures des rapports isotopiques de l'N du NH_4^+ afin de mettre en évidence la production de $^{15}\text{NH}_4^+$ au cours des incubations réalisées sur 48 h après ajout de $^{15}\text{NO}_3^-$ seraient utiles afin de confirmer cette hypothèse. Par contre, les faibles quantités de $^{29}\text{N}_2$ produites nous permettent d'exclure avec quasi-certitude la présence du processus anammox au sein lac Kivu. L'instabilité de la colonne d'eau, et en particulier de l'oxycline, ainsi que la présence proche de H_2S pourraient expliquer cette absence d'anammox.

Nos observations ont également permis de mettre en évidence certains couplages entre différents cycles biogéochimiques. L'oxydation du H_2S par les NO_3^- dans le grand lac et l'oxydation du Fe(II) par les NO_3^- dans la baie de Kabuno ont ainsi été observées, illustrant la complexité du fonctionnement de l'écosystème. L'oxydation du CH_4 par les NO_3^- , par contre, n'a pas pu être mise en évidence. Le pic d'oxydation du CH_4 , coïncidant avec des concentrations très élevées en SO_4^{2-} , suggère plutôt que cette oxydation aurait tendance à avoir lieu avec des SO_4^{2-} comme accepteurs terminaux d'électrons.

L'inhibition de l'activité des SRB a conduit à des productions importantes de NO_3^- , NO_2^- et N_2O et à une consommation des NH_4^+ au niveau des profondeurs anoxiques. Ces profils sont donc très particuliers et suggèrent la possible existence d'une nitrification anaérobie au sein du lac Kivu, laquelle pourrait constituer, pour les grandes profondeurs, une source peut-être non négligeable de NO_3^- pour la dénitrification. Cette nitrification anaérobie pourrait avoir lieu en réduisant le MnO_2 ou en réduisant le Fe(III) . Etablir des profils verticaux des différents états d'oxydo-réduction de ces éléments pourrait tout d'abord constituer une approche complémentaire intéressante. Ensuite, mener les mêmes expériences d'inhibition de l'activité des SRB avec mesure conjointe au cours du temps des concentrations en Mn et en Fe serait également très intéressant à réaliser afin de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse.

Toutes les mesures réalisées au cours de cette étude nous ont permis d'établir un bilan des flux d'N au niveau du mixolimnion du lac Kivu. Ce bilan n'est pas en équilibre, les entrées étant supérieures aux sorties. Ce déséquilibre peut s'expliquer par la très claire sous-estimation de la dénitrification naturelle et par une éventuelle surestimation des taux de fixation biologique de l' N_2 . Afin d'essayer ce bilan, des mesures complémentaires, en grand nombre, de la fixation biologique du N_2 doivent être réalisées. De même, une approche différente, ne développant pas les artefacts

inhérents à la mesure de processus isolés en bouteilles, doit être entreprise afin d'estimer la dénitrification à l'échelle entière du lac. La méthode basée sur la mesure le long de profils verticaux des rapports N_2 :Argon (Groffman et al. 2006) pourrait être tentée lors d'une prochaine campagne au lac Kivu. Cette méthode ne permettra cependant d'estimer que la dénitrification nette (c'est-à-dire la dénitrification totale moins la fixation de N_2) et elle ne permettra pas de connaître les profondeurs auxquelles les processus ont lieu (Groffman et al. 2006), mais elle devrait permettre d'obtenir une estimation surfacique robuste en de nombreux points du lac afin de compléter le bilan en N du mixolimnion.

Il reste un processus important du cycle de l'N qui n'a encore jamais été quantifié au lac Kivu : la nitrification (aérobie). Il serait donc intéressant d'observer et de quantifier ce processus qui joue un rôle considérable dans l'écologie du lac Kivu. Pour ce faire, des incubations avec des marquages isotopiques au $^{15}NH_4^+$ et avec mesure de la production de $^{15}NO_3^-$ pourraient être réalisées. Ces expériences devraient cependant être réalisées fréquemment et à relativement grandes résolutions verticales étant donnée la dynamique saisonnière importante de la nitracline (Wimba 2008).

Le lac Kivu reste donc un environnement complexe relativement peu exploré, en ce qui concerne tout du moins le cycle de l'N. Ce travail a permis de répondre à certaines interrogations que l'on se posait, telles qu'une première approximation de la dénitrification hétérotrophe, une mise en évidence du couplage entre le cycle de l'N et du S et entre le cycle de l'N et du Fe, mais en a également soulevé d'autres, telles que par exemple :

- Quelle est l'importance de la DNRA au niveau du lac Kivu ?
- La nitrification anaérobie au niveau du lac Kivu est-elle une réalité ?
- Si la nitrification anaérobie existe et est un processus important, peut-elle alimenter la dénitrification hétérotrophe en formes d'N oxydées ?
- Quelles sont les organismes responsables de la dénitrification dans la baie de Kabuno et est-ce que leur activité est couplée de manière symbiotique à l'activité oxydatrice du Fe de *Chlorobium ferrooxydans* ?

Des recherches supplémentaires sont donc nécessaires pour éclaircir et approfondir les résultats que nous avons obtenus au sein de cette étude, de nombreuses questions restant en effet en suspens.

Bibliographie

B

- BASTVIKEN, D., TRANVIK, L. J., DOWNING, J. A., CRILL, P. M. & ENRICH-PRAST, A. 2011. Freshwater Methane Emissions Offset the Continental Carbon Sink. *Science*, 331, 50-50.
- BOOTSMA, H. A. & HECKY, R. E. 2003. A comparative introduction to the biology and limnology of the African Great Lakes. *Journal of Great Lakes Research*, 29, 3-18.
- BORGES, A. V., ABRIL, G., DELILLE, B., DESCY, J. P. & DARCHAMBEAU, F. 2011. Diffusive methane emissions to the atmosphere from Lake Kivu (Eastern Africa). *Journal of Geophysical Research-Biogeosciences*, 116.
- BORGES, A.V., BOUILLON, S., ABRIL, G., DELILLE, B., POIRIER, D., COMMARIEU, M.V., LEPOINT, G., MORANA, C., CHAMPENOIS, W., SERVAIS, P., DESCY, J.P., DARCHAMBEAU, F. 2012. Variability of carbon dioxide and methane in the epilimnion of lake Kivu. In : DESCY, J. P., DARCHAMBEAU, F. & SCHMID, M. (eds.) *Lake Kivu. Limnology and biogeochemistry of a tropical great lake*. Springer, Pays-Bas.
- BRAMAN, R. S. & HENDRIX, S. A. 1989. Nanogram Nitrite and Nitrate Determination in Environmental and Biological Materials by Vanadium (III) Reduction with Chemiluminescence Detection. *Analytical Chemistry*, 61, 2715-2718.
- BRODA, E. 1977. Two kinds of lithotrophs missing in nature. *Zeitschrift für allgemeine Mikrobiologie*, 17, 491-493.
- BURGIN, A. J. & 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. & 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. & 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.
- BURRIS, R. H. & ROBERTS, G. P. 1993. Biological nitrogen fixation. *Annual Review of Nutrition*, 13, 317-335.

C

- CANFIELD, D. E., ERIK, K. & BO, T. 2005. The Sulfur Cycle. In: DONALD E. CANFIELD, E. K. & BO, T. (eds.) *Advances in Marine Biology*. Academic Press.
- CANFIELD, D. E., STEWART, F. J., THAMDRUP, B., DE BRABANDERE, L., DALSGAARD, T., DELONG, E. F., REVSBECH, N. P. & ULLOA, O. 2010. A Cryptic Sulfur Cycle in Oxygen-Minimum-Zone Waters off the Chilean Coast. *Science*, 330, 1375-1378.
- CICERONE, R. J. & OREMLAND, R. S. 1988. Biogeochemical aspects of atmospheric methane. *Global Biogeochemical Cycles*, 2, 299-327.

- CLARK, D. R., REES, A. P. & JOINT, I. 2008. Ammonium regeneration and nitrification rates in the oligotrophic Atlantic Ocean: Implications for new production estimates. *Limnology and Oceanography*, 53, 52-62.
- CLEMENT, J.C., SHRESTHA, J., EHRENFELD, G. & JAFFE, 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.
- COLE, J.J. & CARACO, F. 1998. Atmospheric exchange of carbon dioxide in a low-wind oligotrophic lake measured by the addition of SF₆. *Limnology and Oceanography*, 43, 647-656.
- CONRAD, R. 2009. The global methane cycle : recent advances in understanding the microbial processes involved. *Environmental Microbiology Reports*, 1, 285-292.
- CROWE, S. A., KATSEV, S., LESLIE, K., STURM, A., MAGEN, C., NOMOSATRYO, S., PACK, M. A., KESSLER, J. D., REEBURGH, W. S., ROBERTS, J. A., GONZALEZ, L., HAFFNER, G. D., MUCCI, A., SUNDBY, B. & FOWLE, D. A. 2011. The methane cycle in ferruginous Lake Matano. *Geobiology*, 9, 61-78.

D

- DALSGAARD, T., CANFIELD, D. E., PETERSEN, J., THAMDRUP, B. & ACUNA-GONZALEZ, J. 2003. N₂ production by the anammox reaction in the anoxic water column of Golfo Dulce, Costa Rica. *Nature*, 422, 606-608.
- DARCHAMBEAU, F., ISUMBISHO, M. & DESCY, J. P. 2012. Zooplankton of Lake Kivu. In: DESCY, J. P., DARCHAMBEAU, F. & SCHMID, M. (eds.) *Lake Kivu. Limnology and biogeochemistry of a tropical great lake*. Springer, Pays-Bas.
- DESCY, J.P., HIGGINS, H.W., MACKEY, D.J., HURLEY, J.P. & FROST, T.M. 2000. Pigment ratios and phytoplankton assessment in northern Wisconsin lakes. *Journal of Phycology*, 36, 274-286.
- DESCY, J.P., DACHAMBEAU, F., SCHMID, M., WUEST, A., PASCHE, N., MUVUNDJA, F.A., BORGES, A., BOUILLON, S., ABRIL, G., DELILLE, B., POIRIER, D., COMMARIEU, M.-V., LEPOINT G., MORANA, C., CHAMPENOIS, W., SERVAIS, P., SARMENTO, H., LLIRÓS, M., LIBERT, X., SCHMITZ, M., WIMBA, L., NZAVUGA-IZERE, A., GARCÍA-ARMISEN, T., BORREGO, C., ISUMBISHO, M., SNOEKS, J., KANINGINI, B., MASILYA, P., NYINAWAMWIZA, L., GUILLARD, J., JARC, L. & BURGMANN, H. 2012. Lake Kivu. *Limnology and biogeochemistry of a tropical african great lake*. Springer, Pays-Bas.
- DEVOL, A. H. 2008. Denitrification including anammox. In: CAPONE, D. G., BRONK, D. A., MULHOLLAND, M. R. & CARPENTER, E. J. (eds.) *Nitrogen in the Marine Environment*. Elsevier, UK.
- DURISCH-KAISER, E., KLAUSER, L., WEHRLI, B. & SCHUBERT, C. 2005. Evidence of intense archaeal and bacterial methanotrophic activity in the black sea water column. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 8099-8106.

E

- EDMOND, J.M., STALLARD, R.F., CRAIG, H., CRAIG, V., WEISS, R.F. & COULTER, G.W. 1993. Nutrient chemistry of the water column of lake Tanganyika. *Limnology and Oceanography*, 38, 725-738.
- EHRICH, S., BEHRENS, D., LEBEDEVA, E., LUDWIG, W. & BOCK, E. 1995. A new obligately chemolithoautotrophic, nitrite-oxidizing bacterium, *Nitrospira moscoviensis* sp. Nov. and its phylogenetic relationship. *Archives of Microbiology*, 164, 16-23.
- ETTWIG, K. F., SHIMA, S., VAN DE PAS-SCHOONEN, K. T., KAHNT, J., MEDEMA, M. H., OP DEN CAMP, H. J. M., JETTEN, M. S. M. & STROUS, M. 2008. Denitrifying bacteria anaerobically oxidize methane in the absence of Archaea. *Environmental Microbiology*, 10, 3164-3173.

F

- FERRY, J. G. 1992. Methane from acetate. *Journal of Bacteriology*, 174, 5489-5495.

G

- GALLOWAY, J. N., DENTENER, F. J., CAPONE, D. G., BOYER, E. W., HOWARTH, R., SEITZINGER, S., ASNER, G. P., CLEVELAND, C. C., GREEN, P. A., HOLLAND, E. A., KARL, D. M., MICHAELS, A. F., PORTER, J. H., TOWNSEND, A. R. & VÖRÖSMARTY, C. J. 2004. Nitrogen cycles : past, present and future. *Biogeochemistry*, 70, 153-226.
- GONDWE, M.J., GUILDFORD, S.J. & HECKY, R.E. 2008. Planktonic nitrogen fixation in Lake Malawi/Nyasa. *Hydrobiologia*, 596, 251-267.
- GROFFMAN, P.M., ALTABET, M.A., BOHLKE, J.K., BUTTERBACH-BAHL, K., DAVID, M.B., FIRESTONE, M.K., GIBLIN, A.E., KANA, T.M., NIELSEN, L.P. & VOYTEK, M.A. 2006. Methods for measuring denitrification : diverse approaches to a difficult problem. *Ecological Applications*, 16, 2091-2122.
- GRUBER, N. & GALLOWAY, J. N. 2008. An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature*, 451, 293-296.

H

- HALM, H., MUSAT, N., LAM, P., LANGLOIS, R., MUSAT, F., PEDUZZI, S., LAVIK, G., SCHUBERT, C. J., SINHA, B., LAROCHE, J. & KUYPERS, M. M. M. 2009. Co-occurrence of denitrification and nitrogen fixation in a meromictic lake, Lake Cadagno (Switzerland). *Environmental Microbiology*, 11, 1945-1958.
- HAMERSLEY, M. R., LAVIK, G., WOEBKEN, D., RATTRAY, J. E., LAM, P., HOPMANS, E. C., DAMSTE, J. S. S., KRÜGER, S., GRACO, M., GUTIERREZ, D. & KUYPERS, M. M. M. 2007. Anaerobic ammonium oxidation in the Peruvian oxygen minimum zone. *Limnology and Oceanography*, 52, 923-933.

- HAMERSLEY, M. R., WOEBKEN, D., BOEHRER, B., SCHULTZE, M., LAVIK, G. & KUYPERS, M. M. M. 2009. Water column anammox and denitrification in a temperate permanently stratified lake (Lake Ransnitzer, Germany). *Systematic and Applied Microbiology*, 32, 571-582.
- HEISING, S., RICHTER, L., LUDWIG, W. & SCHINK, B. 1999. *Chlorobium ferrooxidans* sp. nov., a phototrophic green sulfur bacterium that oxidizes ferrous iron in coculture with a "Geospirillum" sp. strain. *Archives of Microbiology*, 172, 116-124.
- HINRICHS, K.-U. & BOETIUS, A. 2002. The Anaerobic Oxidation of Methane: New Insights in Microbial Ecology and Biogeochemistry. In: G., W., BILLETT, D., D., H., JORGENSEN, B. B., M., S. & T., V. W. (eds.) *Ocean Margin Systems*. Springer, Berlin.
- HOLTAPPELS, M., LAVIK G., JENSEN, M.M. & KUYPERS, M.M.M. 2011. ¹⁵N-labeling experiments to dissect the contributions of heterotrophic denitrification and anammox to nitrogen removal in the OMZ waters of the ocean. In : KLOTZ, M.G. (ed) *Methods in enzymology*, Research on nitrification and related processes Part A, 486. Academic Press, Burlington.
- HOWARTH, R., CHAN, F., CONLEY, D. J., GARNIER, J., DONEY, S. C., MARINO, R. & BILLEN, G. 2011. Coupled biogeochemical cycles: eutrophication and hypoxia in temperate estuaries and coastal marine ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 9, 18-26.
- HULTH, S., ALLER, R.C. & GILBERT, F. 1999. Coupled anoxic nitrification/manganese reduction in marine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 63, 49-66.
- HULTH, S., ALLER, R. C., CANFIELD, D. E., DALSGAARD, T., ENGSTRÖM, P., GILBERT, F., SUNDBÄCK, K. & THAMDRUP, B. 2005. Nitrogen removal in marine environments: recent findings and future research challenges. *Marine Chemistry*, 94, 125-145.

I

- IPCC 2001. Climate Change 2001 : The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. In: HOUGHTON, J. T., DING, Y., GRIGGS, D. J., NOGUER, M., VAN DER LINDEN, P. J., DAI, X., MASKELL, K. & JOHNSON, C. A. (eds.). Cambridge University Press, UK.
- ISUMBISHO, M., SARMENTO, H., KANINGINI, B., MICHA, J.-C. & DESCY, J.-P. 2006. Zooplankton of Lake Kivu, East Africa, half a century after the Tanganyika sardine introduction. *Journal of Plankton Research*, 28, 971-989.
- IVERSEN, N., OREMLAND, R. S. & KLUG, M. J. 1987. Big Soda Lake (Nevada). 3. Pelagic methanogenesis and anaerobic methane oxidation. *Limnology and Oceanography*, 32, 804-814.

J

- JANNASCH, H. W. 1975. Methane oxidation in Lake Kivu (Central Africa). *Limnology and Oceanography*, 20, 860-864.
- JENSEN, M. M., PETERSEN, J., DALSGAARD, T. & THAMDRUP, B. 2009. Pathways, rates, and regulation of N₂ production in the chemocline of an anoxic basin, Mariager Fjord, Denmark. *Marine Chemistry*, 113, 102-113.
- JETTEN, M. S. M., STROUS, M., VAN DE PAS-SCHOONEN, K. T., SCHALK, J., VAN DONGEN, U. G. J. M., VAN DE GRAAF, A. A., LOGEMANN, S., MUYZER, G., VAN LOOSDRECHT, M. C. M. & KUENEN, J. G. 1998. The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microbiology Reviews*, 22, 421-437.
- JETTEN, M. S. M., SLIEKERS, O., KUYPERS, M., DALSGAARD, T., NIFTRIK, L., CIRPUS, I., PAS-SCHOONEN, K., LAVIK, G., THAMDRUP, B., PASLIER, D., CAMP, H. J. M., HULTH, S., NIELSEN, L. P., ABMA,

- W., THIRD, K., ENGSTRÖM, P., KUENEN, J. G., JØRGENSEN, B. B., CANFIELD, D. E., SINNINGHE DAMSTÉ, J. S., REVSBECH, N. P., FUERST, J., WEISSENBACH, J., WAGNER, M., SCHMIDT, I., SCHMID, M. & STROUS, M. 2003. Anaerobic ammonium oxidation by marine and freshwater planctomycete-like bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63, 107-114.
- JETTEN, M.S.M., VAN NIFTRIK, L., STROUS, M., KARTAL, B., KELTJENS, J.T. & OP DEN KAMP, H.J.M. 2009. Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 44, 65-84.
- JONES, R. I. & GREY, J. 2011. Biogenic methane in freshwater food webs. *Freshwater Biology*, 56, 213-229.
- JORGENSEN, B. B., WEBER, A. & ZOPFI, J. 2001. Sulfate reduction and anaerobic methane oxidation in Black Sea sediments. *Deep Sea Research I*, 48, 2097-2120.

K

- KARTAL, B., RATTRAY, J., VAN NIFTRIK, L. A., VAN DE VOSSENBERG, J., SCHMID, M., WEBB, R., SCHOUTEN, S., FUERST, J., SINNINGHE DAMSTÉ, J. S., JETTEN, M. S. M. & STROUS, M. 2007. Candidatus "Anammoxoglobus propionicus" gen. nov., sp. nov., a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, 30, 39-49.
- KIRCHMAN, D. L., SHERR, E., SHERR, B., FUHRMAN, J. A., HAGSTRÖM, A., MORAN, M. A., BÉJÀ, O., SUZUKI, M. T., WORDEN, A. Z., NOT, F., NAGATA, T., DEL GIORGIO, P. A., GASOL, J. M., ROBINSON, C., CHURCH, M. J., JÜRGENS, K., MASSANA, R., BREITBART, M., MIDDELBOE, M., ROHWER, F., ZEHR, J. P., PAERL, H. W., THAMDRUP, B. & DALSGAARD, T. 2008. *Microbial Ecology of the Ocean*. John Wiley & Sons, Etats-Unis.
- KNITTEL, K. & BOETIUS, A. 2009. Anaerobic Oxidation of Methane: Progress with an Unknown Process. *Annual Review of Microbiology*, 63, 311-334.
- KNOWLES, R. 2005. Denitrifiers associated with methanotrophs and their potential impact on the nitrogen cycle. *Ecological Engineering*, 24, 441-446.
- KUENEN, G. & JETTEN, M. S. M. 2001. Extraordinary anaerobic ammonium-oxidizing bacteria. *American Society for Microbiology News*, 67, 456-463.
- KUYPERS, M. M. M., SLIEKERS, A. O., LAVIK, G., SCHMID, M., JORGENSEN, B. B., KUENEN, J. G., DAMSTE, J. S. S., STROUS, M. & JETTEN, M. S. M. 2003. Anaerobic ammonium oxidation by anammox bacteria in the Black Sea. *Nature*, 422, 608-611.
- KUYPERS, M. M. M., LAVIK, G., WOEBKEN, D., SCHMID, M., FUCHS, B. M., AMANN, R., JORGENSEN, B. B. & JETTEN, M. S. M. 2005. Massive nitrogen loss from the Benguela upwelling system through anaerobic ammonium oxidation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, 6478-6483.

L

- LAM, P., JENSEN, M. M., LAVIK, G., MCGINNIS, D. F., MUELLER, B., SCHUBERT, C. J., AMANN, R., THAMDRUP, B. & KUYPERS, M. M. M. 2007. Linking crenarchaeal and bacterial nitrification to anammox in the Black Sea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 7104-7109.

- LAVIK, G., STUHRMANN, T., BRUCHERT, V., VAN DER PLAS, A., MOHRHOLZ, V., LAM, P., MUSZMANN, M., FUCHS, B. M., AMANN, R., LASS, U. & KUYPERS, M. M. M. 2009. Detoxification of sulphidic African shelf waters by blooming chemolithotrophs. *Nature*, 457, 581-584.
- LENS, P. 2009. Sulfur Cycle. In: MOSELIO, S. (ed.) *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)*. Academic Press, Oxford.
- LEONOV, A. V. & CHICHERINA, O. V. 2008. Sulfate reduction in natural water bodies. 1. The effect of environmental factors and the measured rates of the process. *Water Resources*, 35, 417-434.
- LEWIS, W. M., JR. 1987. Tropical Limnology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 159-184.
- LEWIS, W. M., JR. 2002. Causes for the high frequency of nitrogen limitation in tropical lakes. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie*, 28, 210-213.
- LEWIS, W. M., JR. 2010. Biogeochemistry of tropical lakes. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie*, 30, 1595-1603.
- LINDSAY, M., WEBB, R., STROUS, M., JETTEN, M., BUTLER, M., FORDE, R. & FUERST, J. 2001. Cell compartmentalisation in planctomycetes: novel types of structural organisation for the bacterial cell. *Archives of Microbiology*, 175, 413-429.
- LIU, Y. & WHITMAN, W. B. 2008. Metabolic, Phylogenetic, and Ecological Diversity of the Methanogenic Archaea. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1125, 171-189.
- LLIRÓS, M., GICH, F., PLASENCIA, A., AUGUET, J.C., DARCHAMBEAU, F., CASAMAYOR, E.O., DESCY, J.P. & BORREGO, C. 2010. Vertical distribution of ammonia-oxidizing crenarchaeota methanogens in the epipelagic waters of Lake Kivu (Rwanda-Democratic Republic of the Congo). *Applied and Environmental Microbiology*, 76, 6853-6863.
- LLIRÓS, M., DESCY, J. P., LIBERT, X., MORANA, C., SCHMITZ, M., WIMBA, L., NZAVUGA-IZERE, A., GARCIA-ARMISEN, T., BORREGO, C., SERVAIS, P. & DARCHAMBEAU, F. 2012. Microbial ecology of Lake Kivu. In: DESCY, J. P., DARCHAMBEAU, F. & SCHMID, M. (eds.) *Lake Kivu. Limnology and biogeochemistry of a tropical great lake*. Pays-Bas: Springer.

M

- MAH, R. A., WARD, D. M., BARESI, L. & GLASS, T. L. 1977. Biogenesis of methane. *Annual Review of Microbiology*, 31, 309-341.
- MCCRACKIN, M. L. & ELSER, J. J. 2010. Atmospheric nitrogen deposition influences denitrification and nitrous oxide production in lakes. *Ecology*, 91, 528-539.
- MICHIELS, C. (2012). Stratification verticale des communautés microbiennes du lac Kivu (Afrique de l'Est). Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de bioingénieur.
- MIRANDA, K.M., ESPEY, M.G. & WINK, D.A. 2001. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry*, 5, 62-71.
- MOHR, W., GROßKOPF, T., WALLACE, D.W.R. & LAROCHE, J. 2010. Methodological Underestimation of Oceanic Nitrogen Fixation Rates. *Plos One*, 5 (9).
- MUGIDDE, R., HECKY, R.E., HENDZEL, L.L. & TAYLOR, W.D. 2003. Pelagic nitrogen fixation in lake Victoria (East Africa). *Journal of Great Lakes Research*, 29, 76-88.
- MULDER, A., VAN DE GRAAF, A. A., ROBERTSON, L. A. & KUENEN, J. G. 1995. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. *FEMS Microbiology Ecology*, 16, 177-184.
- MURILLO, F.M., GUGLIUZZA, T., SENKO, J., BASU, P. & STOLZ, J.F. 1999. A heme-C-containing enzyme complex that exhibits nitrate and nitrite reductase activity from the dissimilatory iron-reducing bacterium *Geobacter metallireducens*. *Archives of Microbiology*, 172, 313-320.
- MUVUNDJA, F.A., PASCHE, N., BUGENYI, F.W.B., ISUMBISHO, M., MULLER, B., NAMUGIZE, J.N., RINTA, P., SCHMID, M., STIERLI, R. & WUEST, A. 2009. Balancing nutrient inputs to Lake Kivu. *Journal of Great Lakes Research*, 35, 406-418.

O

- ODADA, E. O., OLAGO, D. O., BUGENYI, F., KULINDWA, K., KARIMUMURYANGO, J., WEST, K., NTIBA, M., WANDIGA, S., ALOO-OBUDHO, P. & ACHOLA, P. 2003. Environmental assessment of the East African Rift Valley lakes. *Aquatic Sciences*, 65, 254-271.
- OREMLAND, R. S. & DES MARAIS, D. J. 1983. Distribution, abundance and carbon isotopic composition of gaseous hydrocarbons in Big Soda Lake, Nevada: An alkaline, meromictic lake. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 47, 2107-2114.
- OREMLAND, R. S., MILLER, L. G. & WHITICAR, M. J. 1987. Sources and flux of natural gases from Mono Lake, California. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 51, 2915-2929.

P

- PANDOLFINI, E., THYS, I., LEPORCQ B. & DESCY, J.P. 2000. Grazing experiments with two freshwater zooplankters: fate of chlorophyll and carotenoid pigments. *Journal of Plankton Research*, 22, 305-319.
- PASCHE, N., DINKEL, C., MULLER, B., SCHMID, M., WUEST, A. & WEHRLI, B. 2009. Physical and biogeochemical limits to internal nutrient loading of meromictic Lake Kivu. *Limnology and Oceanography*, 54, 1863-1873.
- PASCHE, N., SCHMID, M., VAZQUEZ, F., SCHUBERT, C. J., WUEEST, A., KESSLER, J. D., PACK, M. A., REEBURGH, W. S. & BUERGMANN, H. 2011. Methane sources and sinks in Lake Kivu. *Journal of Geophysical Research-Biogeosciences*, 116.
- PASCHE, N., MUVUNDJA, F.A., SCHMID, M., WUEST, A. & MULLER, B. 2012. Nutrient cycling in Lake Kivu. In: DESCY, J. P., DARCHAMBEAU, F. & SCHMID, M. (eds.) *Lake Kivu. Limnology and biogeochemistry of a tropical great lake*. Springer, Pays-Bas.
- POURRIOT, R. & MEYBECK, M. 1995. *Limnologie générale*. Masson, Paris.

R

- RAGHOEBARSING, A. A., POL, A., VAN DE PAS-SCHOONEN, K. T., SMOLDERS, A. J. P., ETTWIG, K. F., RIJPSTRA, W. I. C., SCHOUTEN, S., DAMSTE, J. S. S., OP DEN CAMP, H. J. M., JETTEN, M. S. M. & STROUS, M. 2006. A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification. *Nature*, 440, 918-921.
- REEBURGH, W. S., WARD, B. B., WHALEN, S. C., SANDBECK, K. A., KILPATRICK, K. A. & KERKHOF, L. J. 1991. Black Sea methane geochemistry. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 38, Supplement 2, S1189-S1210.
- RODIER, J., BAZIN, J.-P., CHAMBON, P., CHAMPSAUR, H. & RODI, L. 2005. *L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer*. Dunod, Paris.

S

- SARMENTO, H., ISUMBISHO, M. & DESCY, J.-P. 2006. Phytoplankton ecology of Lake Kivu (eastern Africa). *Journal of Plankton Research*, 28, 815-829.
- SARMENTO, H., DARCHAMBEAU, F. & DESCY, J. P. 2012. Phytoplankton of Lake Kivu. In: DESCY, J. P., DARCHAMBEAU, F. & SCHMID, M. (eds.) *Lake Kivu. Limnology and biogeochemistry of a tropical great lake*. Springer, Pays-Bas.
- SCHMID, M., TWACHTMANN, U., KLEIN, M., STROUS, M., JURETSCHKO, S., JETTEN, M., METZGER, J. W., SCHLEIFER, K.-H. & WAGNER, M. 2000. Molecular Evidence for Genus Level Diversity of Bacteria Capable of Catalyzing Anaerobic Ammonium Oxidation. *Systematic and Applied Microbiology*, 23, 93-106.
- SCHMID, M., WALSH, K., WEBB, R., RIJSTRA, W. I. C., VAN DE PAS-SCHOONEN, K., M.J., V., HILL, T., B., M., FUERST, J., SCHOUTEN, S., SINNINGHE DAMSTÉ, J. S., HARRIS, J., SHAW, P., JETTEN, M. & STROUS, M. 2003. Candidatus "Scalindua brodae", sp.nov., Candidatus "Scalindua wagneri", sp.nov., two new species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. *Applied Microbiology*, 26, 529-538.
- SCHMID, M., HALBWACHS, M., WEHRLI, B. & WUEST, A. 2005. Weak mixing in Lake Kivu: New insights indicate increasing risk of uncontrolled gas eruption. *Geochemistry Geophysics Geosystems*, 6.
- SCHMID, M. & WÜEST, A. 2012. Stratification, mixing and transport processes in Lake Kivu. In: DESCY, J. P., DARCHAMBEAU, F. & SCHMID, M. (eds.) *Lake Kivu. Limnology and biogeochemistry of a tropical great lake*. Springer, Pays-Bas.
- SCHMITZ, M. 2011. Implication des populations microbiennes dans le cycle de l'azote au lac Kivu (Afrique de l'Est). Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie des Organismes et Ecologie.
- SCHOELL, M., TIETZE, K. & SCHOBERTH, S. M. 1988. ORIGIN OF METHANE IN LAKE KIVU (EAST-CENTRAL AFRICA). *Chemical Geology*, 71, 257-265.
- SCHUBERT, C. J., COOLEN, M. J. L., NERETIN, L. N., SCHIPPERS, A., ABBAS, B., DURISCH-KAISER, E., WEHRLI, B., HOPMANS, E. C., DAMSTE, J. S. S., WAKEHAM, S. & KUYPERS, M. M. M. 2006a. Aerobic and anaerobic methanotrophs in the Black Sea water column. *Environmental Microbiology*, 8, 1844-1856.
- SCHUBERT, C. J., DURISCH-KAISER, E., WEHRLI, B., THAMDRUP, B., LAM, P. & KUYPERS, M. M. M. 2006b. Anaerobic ammonium oxidation in a tropical freshwater system (Lake Tanganyika). *Environmental Microbiology*, 8, 1857-1863.
- SEITZINGER, S., HARRISON, J. A., BOHLKE, J. K., BOUWMAN, A. F., LOWRANCE, R., PETERSON, B., TOBIAS, C. & VAN DRECHT, G. 2006. Denitrification across landscapes and waterscapes: A synthesis. *Ecological Applications*, 16, 2064-2090.
- SIGEE, D. C. 2005. *Freshwater Microbiology*. Wiley, Angleterre.
- SIMON, J. 2002. Enzymology and bioenergetics of respiratory nitrite ammonification. *FEMS Microbiology Reviews*, 26, 285-309.
- SINNINGHE DAMSTE, J. S., STROUS, M., RIJSTRA, W. I. C., HOPMANS, E. C., GEENEVASEN, J. A. J., VAN DUIN, A. C. T., VAN NIFTRIK, L. A. & JETTEN, M. S. M. 2002. Linearly concatenated cyclobutane lipids form a dense bacterial membrane. *Nature*, 419, 708-712.
- SNOEKS, J., KANINGINI, B., MASILYA, P., NYINAWAMWIZA, L. & GUILLARD, J. 2012. 8. Fishes in Lake Kivu : diversity and fisheries. In: DESCY, J. P., DARCHAMBEAU, F. & SCHMID, M. (eds.) *Lake Kivu. Limnology and biogeochemistry of a tropical great lake*. Springer, Pays-Bas.
- STRAUB, K.L., BENZ, M., SCHINK, B. & WIDDEL, F. 1996. Anaerobic, Nitrate-Dependent Microbial Oxidation of Ferrous Iron. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 1458-1460.

- STRAUB, K.L., SCHONHUBER, W.A., BUCHHOLZ-CLEVEN, B.E.E. & SCHINK, B. 2004. Diversity of ferrous iron-oxidizing, nitrate-reducing bacteria and their involvement in oxygen-independent iron cycling. *Geomicrobiology Journal*, 21, 371-378.
- STROUS, M., FUERST, J., KRAMER, E. H. M., LOGEMANN, S., MUYZER, G., VAN DE PAS-SCHOONEN, K. T., WEBB, R., KUENEN, G. & JETTEN, M. S. M. 1999. Missing lithotroph identified as new planctomycete. *Nature*, 400.
- STROUS, M., KUENEN, J.G. & JETTEN, S.M. 1999. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 3248-3250.
- STROUS, M. & JETTEN, M. S. M. 2004. Anaerobic oxidation of methane and ammonium. *Annual Review of Microbiology*, 58, 99-117.

T

- THAMDRUP, B. & DALSGAARD, T. 2000. The fate of ammonium in anoxic manganese oxide-rich marine sediment. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64, 4157-4164.
- THAMDRUP, B. & DALSGAARD, T. 2002. Production of N₂ through anaerobic ammonium oxidation coupled to nitrate reduction in marine sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 1312-1318.
- THAMDRUP, B., DALSGAARD, T., JENSEN, M. M., ULLOA, O., FARIAS, L. & ESCRIBANO, R. 2006. Anaerobic ammonium oxidation in the oxygen-deficient waters off northern Chile. *Limnology and Oceanography*, 51, 2145-2156.
- THAUER, R. K., JUNGERMANN, K. & DECKER, K. 1977. Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriological Reviews*, 41, 100-180.
- THAUER, R. K. & SHIMA, S. 2006. Methane and microbes. *Nature*, 440, 878-879.

V

- VALENTINE, D. L. & REEBURGH, W. S. 2000. New perspectives on anaerobic methane oxidation. *Environmental Microbiology*, 2, 477-484.
- VALENTINE, D. L. 2002. Biogeochemistry and microbial ecology of methane oxidation in anoxic environments : a review. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81, 271-282.
- VAN DE GRAAF, A. A., MULDER, A., SLIJKHUIS, H., ROBERTSON, L. A. & KUENEN, G. 1990. Anoxic ammonium oxidation. In: CHRISTIANSEN, C., MUNCK, L. & VILLADSEN, J. (eds.) *Proc. 5th European Congress on Biotechnology*. Munksgaard International Publisher, Copenhagen.
- VANLOON, G. W. & DUFFY, S. J. 2011. *Environmental Chemistry : a global perspective*. Oxford University Press, New-York.

W

- WAHLEN, M. 1993. The global methane cycle. *Annual Review of Earth And Planetary Sciences*, 21, 407-426.
- WALLENSTEIN, M. D., MYROLD, D. D., FIRESTONE, M. & VOYTEK, M. 2006. Environmental controls on denitrifying communities and denitrification rates: Insights from molecular methods. *Ecological Applications*, 16, 2143-2152.

- WEBER, K.A., URRUTIA, M.M., CHURCHILL, P.F., KUKKADAPU, R.K. & RODEN, E.E. 2006. Anaerobic redox cycling of iron by freshwater sediment microorganisms. *Environmental Microbiology*, 8, 100-113.
- WEISS, R.F. 1981. Determination of carbon dioxide and methane by dual catalyst flame ionization chromatography and nitrous oxide by electron capture chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, 19, 611-616.
- WIMBA, K.L. 2008. Contribution à l'étude du bactérioplancton du lac Kivu (Afrique de l'Est) : Abondance, distribution et profils des acides gras. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie des organismes et écologie.
- WRIGHT, S.W., JEFFREY, S.W., MANTOURA, R.F.C., LLEWELLYN, C.A., BJORNLAND, T., REPETA, D. & WESCHMEYER, N. 1991. Improved HPLC method for the analysis of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, 77, 183-196.
- WUEST, A., JARC, L., BURGMANN, H., PASCHE, N. & SCHMID, M. 2012. Methane formation and future extraction in Lake Kivu. In : DESCY, J. P., DARCHAMBEAU, F. & SCHMID, M. (eds.) *Lake Kivu. Limnology and biogeochemistry of a tropical great lake*. Springer, Pays-Bas.

Y

- YOOL, A., MARTIN, A. P., FERNANDEZ, C. & CLARK, D. R. 2007. The significance of nitrification for oceanic new production. *Nature*, 447, 999-1002.

Z

- ZEHR, J. P. 2009. New twist on nitrogen cycling in oceanic oxygen minimum zones. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 4575-4576.
- ZUMFT, W.G. 1997. Cell biology and molecular basis of denitrification. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61, 533-616.

Sites Internet

<http://www.ysi.com>

<http://www.hachhydromet.com>

<http://envlit.ifremer.fr>

<http://exetainer.com>

<http://www.labco.co.uk/ukandinternational>

Annexes

Annexe I : Evolution des concentrations en NO_x et en $^{30}\text{N}_2$ suite à divers enrichissements en $^{15}\text{NO}_3^-$

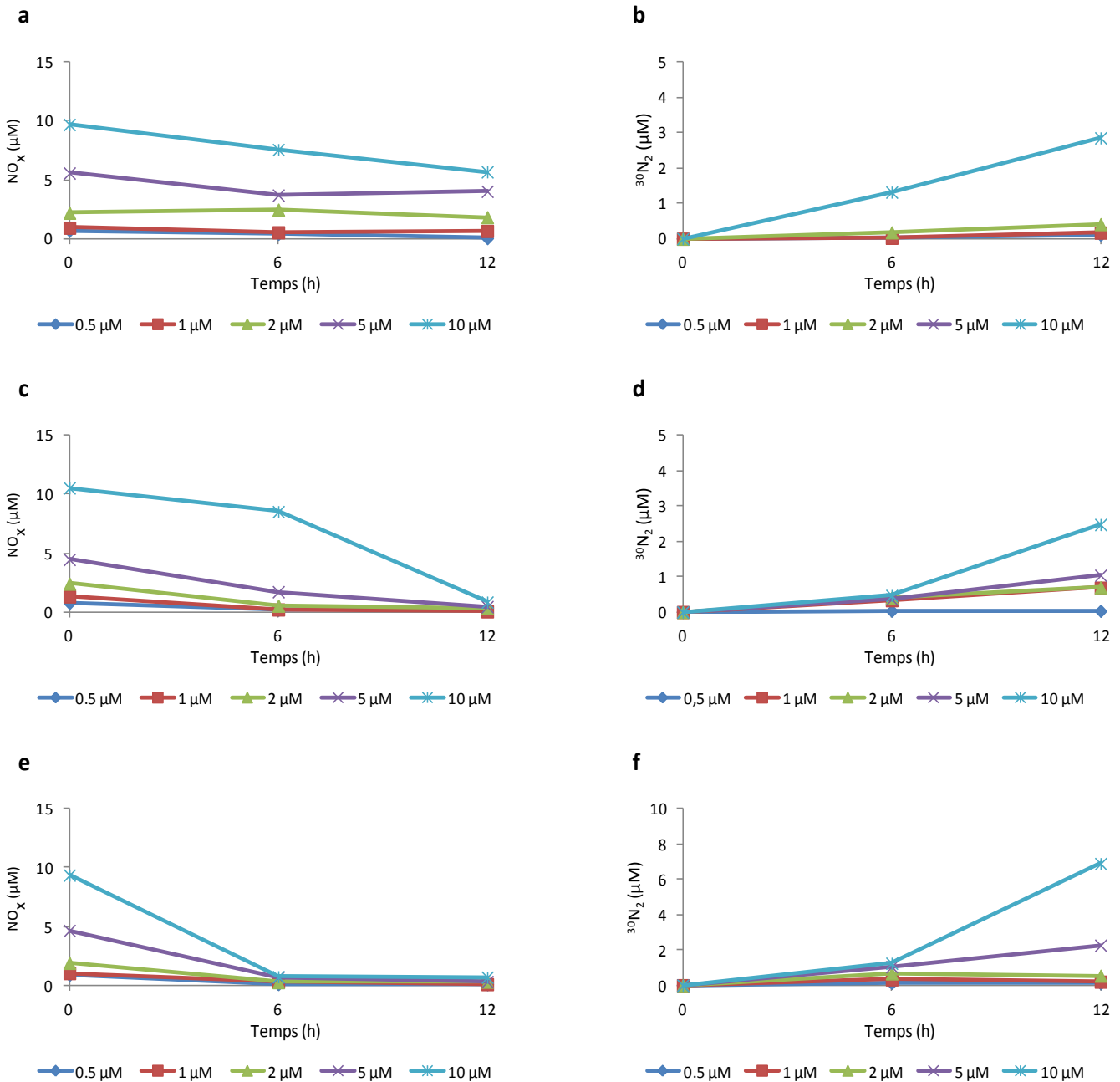


Figure A1 : Evolution des concentrations en NO_x (a, c et e) et en $^{30}\text{N}_2$ (b, d et f) au cours de 12h d'incubation, selon divers enrichissements en $^{15}\text{NO}_3^-$ (0,5 μM , 1 μM , 2 μM , 5 μM et 10 μM) à la station de Gisenyi :

- a et b : 55 m
- c et d : 60 m
- e et f : 65 m

Annexe II : Organismes détectés par pyroséquençage

Tableau A1 : Organismes détectés par pyroséquençage du gène 16S du rDNA, en % d'abondance relative, au sein de la station d'Ishungu, à différentes profondeurs, lors de la campagne d'échantillonnage de janvier-février 2012 (Michiels 2012).

	15	30	40	45	47,5	50	55	60	70	80	100
Acidobacterium	0,00	0,40	1,36	1,38	1,19	0,31	0,41	0,50	1,12	2,56	3,45
Adhaeribacter	0,86	1,50	1,42	2,09	2,03	0,21	0,38	0,14	0,15	0,04	0,12
Algoriphagus	0,34	1,36	1,36	0,04	0,37	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00
Azoarcus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,17	0,57	1,59	1,07	1,75	0,18
Bacillus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,88	5,14	3,90	1,95	1,89
Caldilinea	0,02	0,26	0,65	0,82	0,96	0,05	0,16	0,71	1,51	4,69	11,13
Calothrix	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,38	1,28
Chlorobium	0,00	0,00	0,03	0,04	0,02	0,22	0,25	1,12	3,61	2,06	0,88
Clavibacter	9,73	10,92	6,14	2,17	2,05	1,18	0,88	0,52	0,49	0,04	0,00
Clostridium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,41	0,29	0,59	0,76	1,16
Cyanobium	9,93	0,79	0,32	0,04	0,00	0,02	0,00	0,07	0,05	0,23	0,61
Cytophaga	0,00	0,22	0,13	0,00	0,07	0,24	0,85	1,90	2,19	1,03	0,49
Cytophaga	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,22	1,02	1,66	3,13	2,93
Dechloromonas	0,00	0,00	0,06	0,45	0,30	0,87	2,26	2,86	2,19	1,87	0,73
Dehalococcoides	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,68	1,41	3,84
Delftia	1,27	1,98	10,96	7,81	8,33	1,42	1,35	0,81	0,83	0,92	1,55
Denitratisoma	0,00	0,13	0,84	4,19	8,87	30,41	22,69	10,57	5,61	0,50	0,09
Desulfobacca	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	0,88	1,53	1,22
Desulfobulbus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,19	2,05	3,93	3,45
Desulfovibrio	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,25	0,55	0,88	3,39	4,05
Desulfuromonas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	1,12	0,84	1,89
Desulfuromusa	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,78	2,40	5,52
Ectothiorhodospira	0,00	0,00	0,00	0,11	0,42	0,41	1,35	1,00	0,83	1,30	0,49
Eubacterium	0,07	0,00	0,00	0,64	0,32	0,67	0,82	2,48	2,10	3,13	2,56
Fibrobacter	1,62	3,13	3,43	2,65	1,38	0,24	0,31	0,21	0,49	0,19	0,18
Flavobacterium	19,35	25,66	22,92	21,08	10,97	4,38	3,24	3,55	4,05	1,95	1,68
Flectobacillus	2,29	3,04	2,36	1,68	1,01	0,48	0,13	0,19	0,10	0,00	0,00
Gelria	0,06	0,70	1,81	1,08	2,05	0,43	0,16	0,07	0,20	0,27	0,27
Geobacter	0,04	0,00	0,10	0,15	0,27	0,09	0,31	2,52	5,41	4,81	2,26
Hydrogenophaga	0,04	0,00	0,06	0,22	0,20	0,43	1,51	3,69	3,07	0,69	0,24
Ilumatobacter	1,03	1,23	2,52	1,57	1,01	0,44	0,47	0,14	0,10	0,00	0,00
Lactobacillus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,19	1,02	0,29	0,27	0,00
Legionella	0,00	0,00	0,06	0,26	0,22	0,09	0,09	0,05	0,15	0,46	1,28
Leptolyngbya	0,89	1,41	0,32	0,00	0,12	0,00	0,03	0,14	0,20	0,00	0,00
Limnobacter	0,58	0,84	0,97	1,05	2,96	0,17	0,03	0,02	0,00	0,00	0,00
Methylocapsa	0,00	0,31	0,81	0,82	1,06	0,05	0,06	0,00	0,10	0,00	0,00
Methylococcus	0,00	0,00	0,00	0,30	0,62	0,77	1,41	2,07	2,44	3,01	1,86
Methylocystis	0,00	0,00	0,19	0,52	0,96	0,19	1,16	1,26	0,24	0,04	0,06
Methylomonas	0,00	0,00	0,13	5,61	7,68	12,73	20,33	12,85	1,12	1,45	0,24
Methylophilus	0,00	0,09	0,23	3,21	3,78	4,31	1,98	1,48	0,88	0,19	0,06
Natronocella	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	1,22	2,40	0,64
Neochlamydia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,67	2,44	2,56	4,15
Nitrospira	0,06	1,76	3,36	5,27	6,57	1,71	0,91	0,62	2,24	2,33	0,73
OP10 (genus)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,07	0,13	0,69	2,15	1,72	1,07
Petrimonas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29	0,49	1,49	1,65

Tableau A1 (suite)

	15	30	40	45	47,5	50	55	60	70	80	100
Pigmentiphaga	0,63	0,84	0,94	1,42	0,82	0,02	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00
Rathayibacter	1,34	0,75	0,65	0,75	0,25	0,19	0,13	0,17	0,00	0,19	0,03
Roseomonas	0,58	1,10	0,29	0,22	0,40	0,15	0,03	0,00	0,15	0,19	0,15
Schlegelella	2,26	1,80	1,26	1,05	0,94	0,12	0,06	0,10	0,00	0,00	0,00
Smithella	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,12	0,20	0,72	2,04
Sphingobacterium	17,74	14,83	9,50	7,14	7,86	0,65	0,63	0,38	0,88	0,08	0,09
Streptomyces	6,10	6,12	6,14	3,77	2,72	0,77	0,47	0,50	0,59	0,04	0,03
Sulfuricurvum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,21	1,22	0,15	0,00
Synechococcus	13,49	1,98	0,65	0,19	0,12	0,00	0,00	0,59	3,46	6,25	3,02
Syntrophus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,47	2,26	3,12	2,75	2,10
Thermomicrobium	0,09	0,22	0,81	0,82	1,06	0,09	0,03	0,00	0,00	0,00	0,06
Thiobacillus	0,02	0,00	0,39	3,33	5,81	19,62	13,17	11,45	4,49	3,24	0,95
Thiothrix	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,35	0,81	2,34	0,38	0,06
Vibrio	0,00	0,00	0,16	1,16	1,21	7,01	11,00	6,47	2,97	0,84	0,00
Victivallis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,05	0,09	0,64	0,73	3,01	4,88
Wolbachia	0,00	1,01	0,26	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Wolinella	0,02	2,99	1,75	1,79	0,57	0,05	0,00	0,00	0,10	0,42	0,37
Zoogloea	0,00	0,00	0,00	0,11	0,12	1,85	0,79	0,55	0,34	0,04	0,00

Tableau A2 : Organismes détectés par pyroséquençage du gène 16S du rDNA, en % d'abondance relative, au sein de la station de Gisenyi, à différentes profondeurs, lors de la campagne d'échantillonnage de janvier-février 2012 (Michiels 2012).

	15	25	27,5	30	32,5	35	37,5	40	42,5	45	50	60	70	80
Acidithiobacillus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,79	1,15
Acidobacterium	0,00	0,04	0,13	0,57	0,98	2,41	3,00	3,52	2,78	1,98	2,23	0,51	3,00	2,25
Acinetobacter	0,00	0,14	0,04	0,00	0,27	0,04	0,07	2,80	1,09	0,09	1,18	0,05	0,68	0,09
Adhaeribacter	0,41	0,32	0,17	3,33	6,52	5,46	4,55	2,73	2,15	1,13	0,12	0,10	0,00	0,00
Algoriphagus	0,14	0,46	0,47	0,57	2,20	2,02	2,11	1,39	1,45	0,22	0,12	0,10	0,00	0,00
Azoarcus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,05	0,11	0,28	1,36	0,36	0,00	0,00
Bacillus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,04	0,00	0,10	0,22	1,92	4,43	4,73	1,48
Byssovorax	0,19	0,00	0,00	0,03	0,14	0,17	0,13	0,14	0,14	2,39	1,12	0,57	0,84	0,12
Caldilinea	0,14	0,07	0,30	0,38	0,44	0,73	1,02	0,69	0,93	0,25	0,00	0,46	1,47	3,22
Chlorobium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,05	0,60	0,87	2,94	6,41	2,96
Clavibacter	12,82	13,48	12,46	9,55	3,34	2,97	4,88	1,72	1,72	1,29	0,87	2,52	0,11	0,12
Clostridium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,25	0,15	1,00	0,24
Cyanobium	4,48	2,97	1,12	1,01	0,03	0,09	0,31	0,05	0,10	0,13	0,00	1,85	0,11	0,15
Cyanothece	0,17	0,04	0,00	0,13	0,10	1,38	0,07	0,88	1,34	0,38	0,06	0,15	0,11	0,00
Cylindrospermopsis	0,61	0,97	1,03	0,53	0,00	0,00	0,02	0,02	0,00	0,03	0,00	0,26	0,63	0,00
Cytophaga	0,00	0,00	0,26	0,06	0,07	0,13	0,24	0,09	0,47	1,04	1,49	1,24	1,47	0,47
Cytophaga	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,77	1,31	1,15
Delftia	2,98	6,04	2,54	7,35	12,46	8,39	6,12	12,03	2,49	3,01	0,68	3,91	0,53	0,38
Denitratisoma	0,00	0,00	0,00	0,03	0,30	0,30	0,87	1,21	3,23	20,03	27,42	5,20	0,16	0,09
Desulfobacca	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,31	1,68	1,69
Desulfobulbus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	2,26	5,38
Desulfocapsa	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,72	3,05	12,45
Desulfomonile	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,47	1,01
Desulfovibrio	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,31	0,88	1,31	0,95
Desulfuromonas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,05	0,00	0,00	0,21	0,89	1,21
Desulfuromusa	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,16	1,30
Ectothiorhodospira	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,14	0,23	0,22	0,12	0,46	1,31	0,33
Eubacterium	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,38	0,93	1,08	1,89	1,60
Fibrobacter	0,75	2,04	2,33	3,02	4,69	3,23	3,24	2,60	4,24	1,38	0,25	1,44	0,63	0,18
Flavobacterium	16,16	16,91	22,04	23,46	27,76	25,04	31,95	24,14	27,32	21,50	9,06	7,83	1,84	1,66
Flectobacillus	2,13	2,50	3,36	2,32	1,96	2,15	2,13	1,58	1,31	0,44	0,12	0,88	0,00	0,00
Gelria	1,33	0,50	0,91	1,13	2,77	2,62	1,55	2,50	0,53	0,63	0,19	0,26	0,00	0,15

Tableau A2 (suite)

	15	25	27,5	30	32,5	35	37,5	40	42,5	45	50	60	70	80
Geobacter	0,00	0,00	0,00	0,19	0,14	0,17	0,31	0,70	0,70	1,10	1,12	2,94	8,36	5,26
Ilumatobacter	0,61	0,54	0,26	1,22	1,55	1,85	2,50	3,69	3,83	1,04	0,50	0,31	0,00	0,00
Leptolyngbya	2,85	2,47	2,07	1,19	0,20	0,56	0,07	0,21	0,22	0,09	0,00	1,39	0,16	0,06
Levilinea	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,12	0,30	2,39	1,30	0,93	1,16	0,83
Limnobacter	0,77	0,36	0,09	0,44	0,41	0,86	0,65	1,07	0,89	0,06	0,00	0,10	0,00	0,00
Limnothrix	0,03	0,57	1,25	0,19	0,07	0,00	0,07	0,05	0,11	0,00	0,00	0,36	0,00	0,00
Methylocapsa	0,00	0,00	0,17	0,91	1,65	4,30	1,70	2,83	3,71	3,17	0,37	0,05	0,00	0,00
Methylomonas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,11	0,28	3,72	0,98	0,68	0,21
Methylophilus	0,00	0,00	0,00	0,09	0,24	0,04	0,09	0,39	0,57	0,63	1,99	1,08	0,11	0,00
Methyloversatilis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,89	1,32	0,12	0,00	0,00	0,06
Nitrospira	0,00	0,04	0,00	0,72	1,49	1,72	2,02	2,32	3,34	0,31	0,19	0,31	2,52	3,73
OP10 (genus)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,37	1,03	2,10	1,51
Opiritatus	0,00	0,04	0,30	0,60	0,74	1,33	0,74	0,93	0,94	0,28	0,68	0,46	0,11	0,00
Pelagibacter	0,00	0,00	0,00	0,31	1,28	1,81	0,70	0,47	0,64	0,03	0,00	0,21	0,00	0,00
Petrimonas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,79	1,42
Prosthecomicrobium	0,00	0,00	0,00	0,16	0,47	1,25	1,55	2,87	2,28	2,39	1,05	0,15	0,00	0,00
Rathayibacter	1,30	2,47	1,16	1,88	0,57	0,34	0,72	0,39	0,25	0,22	0,19	0,15	0,00	0,18
Rhodobacter	0,03	0,11	0,09	0,00	0,17	0,13	0,39	0,49	0,52	2,04	1,67	0,36	0,00	0,00
Schlegelella	1,88	2,47	1,21	1,38	1,08	0,99	1,28	0,97	0,90	0,31	0,06	0,41	0,16	0,06
Sphingobacterium	16,13	17,80	20,31	13,41	9,49	10,33	6,07	6,01	6,81	3,64	1,36	9,53	0,11	0,59
Spirulina	3,09	2,43	2,11	0,91	0,27	0,52	0,44	0,18	0,34	0,03	0,31	0,77	0,79	0,21
Streptomyces	4,83	6,22	5,95	6,69	4,42	3,74	4,27	2,94	2,44	1,13	1,18	1,44	0,00	0,09
Sulfuricurvum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	1,18	0,37	0,00
Sulfurimonas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	5,15	12,04
Synechococcus	15,14	7,08	7,12	3,89	0,61	0,60	0,65	0,30	0,62	0,16	0,25	4,58	2,00	6,00
Syntrophus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	1,08	4,78	2,31
Thermomicrobium	0,00	0,18	0,13	0,31	0,57	0,73	0,19	1,04	0,89	0,63	0,00	0,10	0,00	0,06
Thiobacillus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,13	0,24	0,49	1,59	8,07	14,27	7,47	2,31	0,27
Thiothrix	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	5,77	7,52	3,52
Vibrio	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,14	0,36	1,98	7,32	4,12	0,63	0,12
Victivallis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,02	0,00	0,00	0,00	0,31	1,68	0,89
Wolinella	0,00	0,04	0,00	0,31	0,10	0,04	0,15	0,09	0,01	0,03	1,05	0,05	0,00	0,12

Tableau A3 : Organismes détectés par pyroséquençage du gène 16S du rDNA, en % d'abondance relative, au sein de la station de Kabuno, à différentes profondeurs, lors de la campagne d'échantillonnage de janvier-février 2012 (Michiels 2012).

	1	4	10	10,5	10,75	11	11,25	11,5	12	15	30
Acinetobacter	0,07	0,00	0,05	0,02	0,00	0,00	1,27	1,65	2,09	0,02	0,00
Albidiferax	0,00	0,00	3,13	3,90	2,14	1,65	2,16	1,04	0,53	1,18	10,61
Anaerolinea	0,00	0,00	0,00	0,19	0,15	0,17	0,61	0,36	1,19	0,57	0,92
Aphanizomenon	1,49	0,77	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00
Azoarcus	0,00	0,00	0,00	0,71	3,03	1,88	1,74	1,37	0,44	1,18	6,05
Caldilinea	0,17	0,05	0,09	0,00	0,08	0,08	0,61	1,08	3,19	3,53	1,36
Chlorobium	0,03	0,09	12,03	73,21	78,30	71,50	54,06	40,65	23,36	36,44	36,73
Clavibacter	12,37	11,82	0,89	0,02	0,00	0,03	0,02	0,00	0,06	0,10	0,00
Cyanobium	11,15	9,88	0,33	0,19	0,09	0,00	0,14	0,11	1,62	0,14	0,65
Cytophaga	0,00	0,00	0,24	0,24	0,08	0,03	0,12	0,25	0,78	1,46	0,83
Desulfobacca	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	1,06	0,57	0,04
Desulfobacterium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,02	0,66	0,99	0,13
Desulfomonile	0,00	0,00	0,00	0,24	0,23	0,47	0,87	1,50	2,84	3,55	0,31
Ectothiorhodospira	0,00	0,00	1,69	0,02	0,03	0,00	0,05	0,02	0,00	0,02	0,00
Eubacterium	0,00	0,02	0,33	0,34	0,49	0,82	1,67	2,31	2,22	1,56	0,74
Flavobacterium	8,75	10,23	1,20	2,42	1,42	1,61	3,26	4,21	9,90	6,90	2,61
Flectobacillus	2,15	2,00	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Geobacter	0,03	0,07	1,18	6,32	6,14	14,30	17,21	21,99	14,05	13,77	16,25
Ilumatobacter	1,01	0,54	0,14	0,00	0,00	0,02	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
Leptolyngbya	2,26	1,05	0,33	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Levilinea	0,00	0,00	0,38	0,81	0,21	0,29	0,40	0,27	1,31	1,84	0,33
Magnetobacterium	0,00	0,00	0,00	0,07	0,14	0,18	0,40	1,29	0,47	0,42	0,63
Methylocaldum	0,00	0,00	16,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,10	0,00
Methylococcus	0,00	0,00	30,72	0,00	0,01	0,03	0,00	0,00	0,12	0,07	0,07
Methylothermus	0,00	0,00	0,05	0,21	0,19	0,67	1,13	1,44	2,87	0,52	0,25
Methylovorus	0,07	0,00	4,58	0,11	0,09	0,02	0,12	0,06	0,03	0,14	0,04
Micrococcus	1,01	0,65	0,00	0,00	0,01	0,03	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00
Nitrosovibrio	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,10	0,16	0,53	2,34	0,09	0,00
OD1 (genus)	0,00	0,00	0,12	0,32	0,05	0,30	0,49	1,48	0,44	0,90	0,00
OP10 (genus)	0,00	0,61	0,00	0,00	0,11	0,18	1,48	2,45	2,15	1,20	0,38
Opiritus	1,42	1,12	0,63	0,00	0,05	0,02	0,00	0,09	0,12	0,35	0,00
Pseudomonas	0,00	0,07	0,75	0,06	0,00	0,00	0,16	0,08	0,06	0,05	0,27
Rhodobacter	0,24	0,21	0,28	3,02	2,95	1,21	1,34	1,25	0,66	0,61	0,67
Rhodoferax	0,00	0,00	11,19	2,96	1,07	0,76	1,36	1,50	0,75	2,05	10,00
Rhodomicrobium	0,00	0,00	1,46	0,11	0,00	0,05	0,05	0,04	0,06	0,10	0,00
Schlegelella	0,42	1,42	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,19	0,00	0,00
Sphingobacterium	15,87	17,30	0,78	0,00	0,00	0,00	0,09	0,06	0,25	0,31	0,00
Spirulina	1,18	1,05	0,00	0,04	0,06	0,02	0,00	0,00	0,09	0,07	0,00
SR1 (genus)	0,00	0,00	0,00	0,15	0,14	0,32	0,82	1,54	1,22	0,49	0,31
Streptomyces	4,45	4,90	0,68	0,04	0,00	0,05	0,49	0,27	1,50	0,17	0,20
Synechococcus	23,86	23,47	0,73	0,17	0,31	0,10	0,45	0,89	2,87	1,72	2,77
Syntrophus	0,00	0,00	0,00	0,06	0,06	0,07	0,35	0,68	1,34	0,99	0,38
Thermodesulfovibrio	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,07	0,70	0,97	1,03	0,12	0,04
Thermolithobacter	0,00	0,00	0,09	0,17	0,01	0,05	0,16	0,19	0,12	1,13	0,00

