

**Direction des bibliothèques**

**AVIS**

Ce document a été numérisé par la Division de la gestion des documents et des archives de l'Université de Montréal.

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

**NOTICE**

This document was digitized by the Records Management & Archives Division of Université de Montréal.

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

**Le cycle de l'azote de marais filtrants artificiels: potentiel d'émission de gaz à effet de serre (GES) et exportation de formes azotées.**

par  
Gabriel Maltais-Landry

Département de sciences biologiques  
Faculté des arts et sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de Maître ès sciences (M. Sc.)  
en sciences biologiques

Juin 2008

© Gabriel Maltais-Landry, 2008



Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :  
**Le cycle de l'azote de marais filtrants artificiels: potentiel d'émission de gaz à effet de serre (GES) et exportation de formes azotées.**

présenté par :  
Gabriel Maltais-Landry

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Bernadette Pinel-Alloul  
présidente-rapporteure

Roxane Maranger  
directrice de recherche

Jacques Brisson  
codirecteur

Yves Prairie  
membre du jury

## Résumé

L'utilisation de marais filtrants croît constamment car ils sont efficaces pour traiter divers types d'eaux usées. Toutefois, l'épuration de l'azote demeure variable et parfois inadéquate, et les processus épuratoires émettent des gaz à effet de serre (GES). Nous avons approfondi ces deux aspects en tentant d'isoler l'effet de trois facteurs-clés: la présence et l'espèce de plantes, l'ajout d'aération artificielle, la saison. Nous avons observé que les conditions plus oxygénées des marais plantés et aérés ont favorisé l'épuration d'azote tout en abaissant les flux de GES. Parmi les espèces choisies, *Typha angustifolia* a eu l'effet général le plus bénéfique, mais cet effet a varié selon la variable étudiée. Les températures hivernales ont fait chuter l'épuration et la production de GES, probablement à cause d'un ralentissement du métabolisme bactérien. Cette étude démontre que l'utilisation de marais plantés et aérés artificiellement stimule l'épuration d'azote et limite la production de GES.

MOTS-CLÉS: Marais filtrants à flux sous-surfacique horizontal, *Phragmites australis*, *Typha angustifolia*, *Phalaris arundinacea*, aération artificielle, saison.

## **Abstract**

The use of constructed wetlands (CWs) is growing because of their efficiency to treat point-source wastewater. However, the removal of nitrogen remains variable and often unsatisfactory, while removal processes produce harmful greenhouse gases (GHG). The objectives of this study were to gain a better knowledge of these aspects in relation to three key factors: presence and species of macrophyte, presence of artificial aeration, and season. We found that higher oxygen availability in planted and in aerated units resulted in higher nitrogen removal and processing rates, and lower GHG production. Among the species studied, *Typha angustifolia* had the best performances, although this effect varied depending on the variable studied. Lower winter temperatures lowered nitrogen removal and GHG production, likely as a function of lower bacterial metabolism. This study confirms that the best results in terms of nitrogen processing and GHG production are obtained in planted and aerated CWs.

**KEYWORDS :** Subsurface flow constructed wetlands, *Phragmites australis*, *Typha angustifolia*, *Phalaris arundinacea*, artificial aeration, season, nitrogen, greenhouse gases.

# TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	III
ABSTRACT.....	IV
TABLE DES MATIÈRES.....	V
LISTE DES TABLEAUX.....	VII
LISTE DES FIGURES.....	VIII
LISTE DES ABRÉVIATIONS ET DES ACRONYMES.....	X
REMERCIEMENTS.....	XI
CHAPITRE 1 : INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
1.1 GÉNÉRALITÉS SUR LES MARAIS FILTRANTS.....	1
1.1.1 Mise en contexte de l'utilisation des marais filtrants.....	1
1.1.2 Types de marais filtrants et généralités sur l'épuration.....	2
1.1.3 La présence de plantes au sein de marais filtrants.....	4
1.1.4 La présence d'aération artificielle au sein de marais filtrants.....	6
1.1.5 L'effet des saisons au sein des marais filtrants.....	6
1.2 LE CYCLE DE L'AZOTE AU SEIN DES MARAIS FILTRANTS.....	7
1.2.1 La voie principale de dégradation de l'azote : la nitrification/dénitrification.....	7
1.2.2 L'effet des macrophytes sur le cycle de l'azote.....	11
1.2.3 L'effet de l'aération artificielle sur le cycle de l'azote.....	12
1.2.4 L'effet de la saison sur le cycle de l'azote.....	13
1.2.5 Les autres processus reliés à l'azote en marais filtrants.....	13
1.3 LES ÉMISSIONS DE GES AU SEIN DES MARAIS FILTRANTS.....	15
1.3.1 Les principaux GES.....	16
1.3.1.1 Le protoxyde d'azote.....	16
1.3.1.2 Le méthane.....	17
1.3.1.3 Le dioxyde de carbone.....	18
1.3.2 L'effet des plantes sur les GES.....	18
1.3.3 L'effet de l'aération artificielle sur les GES.....	20
1.3.4 L'effet de la saison sur les GES.....	20
1.4 CONSIDÉRATIONS MÉTHODOLOGIQUES SUR LES GAZ.....	21
1.4.1 Mesures avec utilisation de chambres.....	21
1.4.2 Mesures avec des concentrations mesurées et des modèles de flux.....	22
1.4.3 Comparaison et choix entre les méthodes.....	23
1.5 OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES DE RECHERCHE.....	24
1.6 ORGANISATION ET CONTENU DU MÉMOIRE.....	27
1.7 APPORT DE L'ÉTUDIANT ET DES COAUTEURS AUX ARTICLES.....	28
CHAPITRE 2: EFFECT OF ARTIFICIAL AERATION AND MACROPHYTE SPECIES ON NITROGEN CYCLING AND GAS FLUX IN CONSTRUCTED WETLANDS.....	29
2.1 ABSTRACT.....	30
2.2 INTRODUCTION.....	31
2.3 MATERIALS AND METHODS.....	34
2.3.1 Experimental system.....	34
2.3.2 Gas sampling methods.....	36
2.3.3 Water sampling methods.....	38
2.3.4 Mass balance calculations.....	39
2.3.5 Statistical analyses.....	40
2.4 RESULTS.....	40
2.4.1 Nitrogen transformations and nitrous oxide gas fluxes.....	40
2.4.2 Carbon dioxide and methane gas fluxes.....	44
2.5 DISCUSSION.....	45
2.6 CONCLUSIONS.....	50
2.7 ACKNOWLEDGEMENTS.....	51

<b>CHAPITRE 3: NITROGEN TRANSFORMATIONS AND RETENTION IN PLANTED AND ARTIFICIALLY AERATED CONSTRUCTED WETLANDS.....</b>	<b>52</b>
3.1 ABSTRACT .....	53
3.2 INTRODUCTION .....	54
3.3 MATERIALS AND METHODS .....	56
3.3.1 <i>Experimental system</i> .....	56
3.3.2 <i>Water sampling methods</i> .....	59
3.3.3 <i>Mass balance calculations</i> .....	59
3.3.4 <i>Gas sampling methods</i> .....	61
3.3.5 <i>Plant uptake estimation</i> .....	61
3.3.6 <i>Hydraulic retention time distribution</i> .....	62
3.3.7 <i>Statistical analyses</i> .....	62
3.4 RESULTS .....	63
3.4.1 <i>N retention, transformations and export</i> .....	63
3.4.2 <i>Causal models of N export</i> .....	68
3.5 DISCUSSION .....	71
3.6 CONCLUSION .....	76
3.7 ACKNOWLEDGEMENTS .....	77
<b>CHAPITRE 4: GREENHOUSE GAS PRODUCTION AND GLOBAL EFFICIENCY OF PLANTED AND ARTIFICIALLY AERATED CONSTRUCTED WETLANDS .....</b>	<b>78</b>
4.1 ABSTRACT .....	79
4.2 INTRODUCTION .....	80
4.3 MATERIALS AND METHODS .....	82
4.3.1 <i>Experimental system</i> .....	82
4.3.2 <i>Gas sampling methods</i> .....	83
4.3.3 <i>Carbon dioxide equivalents calculations</i> .....	84
4.3.4 <i>Water sampling methods and mass balance calculations</i> .....	84
4.3.5 <i>Hydraulic retention time distribution</i> .....	86
4.3.6 <i>Statistical analyses</i> .....	86
4.4 RESULTS .....	87
4.4.1 <i>GHG fluxes</i> .....	87
4.4.2 <i>Carbon dioxide equivalents</i> .....	92
4.4.3 <i>Effects of treatments on multiple variables using RDA</i> .....	93
4.5 DISCUSSION .....	95
4.6 CONCLUSION .....	100
4.7 ACKNOWLEDGEMENTS .....	100
<b>CHAPITRE 5 : CONCLUSION GÉNÉRALE .....</b>	<b>102</b>
5.1 RETOUR SUR LES OBJECTIFS .....	102
5.2 DIRECTIONS FUTURES .....	103
<b>RÉFÉRENCES.....</b>	<b>105</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>I</b>
ANNEXE 1 : RÉSULTATS BRUTS .....	I
<i>Données brutes – Nutriments</i> .....	i
<i>Données brutes – Physico-chimie de l'eau</i> .....	v
<i>Données brutes – Comportement hydraulique</i> .....	viii
<i>Données brutes – Gaz</i> .....	ix
<i>Données brutes – Plantes et contenu en azote</i> .....	xiv
ANNEXE 2 : RÉSULTATS DES ANALYSES STATISTIQUES .....	XVI
<i>Analyses – ANOVA et tests de Tukey pour les flux d'azote</i> .....	xvi
<i>Analyses – ANOVA et tests de Tukey pour les flux de GES</i> .....	xix
<i>Analyses – ANOVA et tests de Tukey pour le prélèvement végétal</i> .....	xxiv
<i>Analyses – Analyses de coefficients de direction pour les flux de nutriments</i> .....	xxv
<i>Analyses – Analyses canoniques de redondance</i> .....	xxviii

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Rendements énergétiques (kilocalories produites par mole de réducteur oxydé) pour différentes réactions REDOX (modifié de Fenchel et Blackburn 1979) .....	16
<b>Table II:</b> ANOVA statistics among treatments and variables, with degrees of freedom (df) and results from the Tukey HSD tests. Only statistically significant results ( $p < 0.05$ ) are shown.....	41
<b>Table III:</b> Spearman rank correlations among treatments and variables. Note: TN and DON removal, $\text{NH}_4^+$ and $\text{NO}_y$ production. Significance: * = $p < 0.05$ , ** = $p < 0.01$ , *** = $p < 0.001$ .....	41
<b>Table IV:</b> ANOVA statistics for TN export among treatments, with degrees of freedom (df) and results from the Tukey HSD tests. Only statistically significant results ( $p < 0.05$ ) are shown. <i>P. arundinacea</i> and non-aerated <i>P. australis</i> are treated together unless stated otherwise. Signification: * $p < 0.05$ , ** $p < 0.01$ , *** $p < 0.001$ .....	64
<b>Table V:</b> ANOVA statistics for N species export among variables and treatments, with degrees of freedom (df) and results from the Tukey HSD tests. With the exception of the model for DON, only statistically significant results ( $p < 0.05$ ) are shown.....	66
<b>Table VI:</b> Biomass, N content and contribution of plant uptake to N removal (as $\text{g N m}^{-2} \text{y}^{-1}$ , % removal, % load) according to macrophytes species and presence of artificial aeration. ....	68
<b>Table VII:</b> ANOVA statistics for the effects of season on GHG fluxes among treatments, with degrees of freedom (df), statistical signification (sig.) and results from the Tukey HSD tests. Only statistically significant results ( $p < 0.05$ ) are shown. Signification: * $p < 0.05$ , ** $p < 0.01$ , *** $p < 0.001$ . ....	89



## Liste des figures

Figure 1.1 – Principaux types de marais filtrants artificiels selon le type d'écoulement (tiré de Drizo (1998)): a) flux surfacique, b) flux sous-surfacique vertical, c) flux sous-surfacique horizontal. ....	3
Figure 1.2 – Cycle simplifié de l'azote au sein des marais filtrants (tiré de Tanner et al. (2002)).....	7
Figure 1.3 : Étendue des flux de N-N <sub>2</sub> O rapportés dans la littérature.....	17
Figure 1.4 : Coupe schématique d'un mésocosme utilisé durant l'expérimentation (Vincent Gagnon 2008). ....	27
Figure 2.1: Average A) TN removal rates, B) NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> production rates and C) NO <sub>y</sub> production rates among various wetland treatments. Note that negative production means a net removal. Error bar are standard deviations (SD) of the mean.....	42
Figure 2.2: Proportion of TN (means, on a percentage basis) as PN, DON, NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> and NO <sub>y</sub> among wetland treatments. In each macrophytes treatment, A = aerated and NA = non-aerated. ....	43
Figure 2.3: Average A) N-N <sub>2</sub> O fluxes and B) proportion of TN <sub>r</sub> emitted as N-N <sub>2</sub> O among wetland treatments. Capital letters denote significant differences among macrophyte treatments using a Tukey test regardless the presence or absence of aeration. Lower case letters denote a significant difference between aerated and non-aerated conditions within a specific planted or unplanted treatment. Error bars are SD of the mean.....	44
Figure 2.4: Average A) C-CO <sub>2</sub> fluxes and B) C-CH <sub>4</sub> fluxes among wetland treatments. Capital letters denote significant differences among macrophyte treatments using a Tukey test regardless the presence or absence of aeration. Lower case letters denote a significant difference between aerated and non-aerated conditions within a specific planted or unplanted treatment. Error bars are SD of the mean. ....	46
Figure 3.1: TN removal as a function of time. In each macrophyte treatment, A = aerated and NA = non-aerated. ....	65
Figure 3.2: Proportion of TN load (means, on a percentage basis) as different species (PN, DON, NH <sub>4</sub> , NO <sub>y</sub> ) in the inlet and the outlet among different wetland treatments. In each macrophyte treatment, A = aerated and NA = non-aerated. ....	67
Figure 3.3: Causal models obtained using path analysis for the export of A) TN, B) NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , and C) NO <sub>y</sub> . Adjusted R <sup>2</sup> are given in parentheses after R <sup>2</sup> , and *** denotes a significant relationship (p<0.001). Significant relationships are represented by dotted arrows (p<0.05), full arrows (p<0.01), and non-significant predictors are not included in the models. Numbers in the arrows are standardized coefficients of multiple regression. The positive or negative sign associated with the coefficients describe the direction of the relationship.....	71

Figure 4.1: A) Fluxes of N-N<sub>2</sub>O according to time and B) average N-N<sub>2</sub>O fluxes among treatments. In (A): A = aerated, and NA = non-aerated. Capital letters in (B) denote significant differences among macrophyte treatments using a Tukey test regardless the presence or absence of aeration. Error bars are standard deviation (SD) of the mean calculated over the 10 sampling dates. .... 88

Figure 4.2: A) Fluxes of C-CO<sub>2</sub> according to time and B) average C-CO<sub>2</sub> fluxes among treatments. See Figure 4.1 for details on letter interpretation. .... 90

Figure 4.3: A) Fluxes of C-CH<sub>4</sub> according to time and B) average C-CH<sub>4</sub> fluxes among treatments. In (A): A = aerated, and NA = non-aerated. Capital letters in (B) denote significant differences among macrophyte treatments using a Tukey test in non-aerated conditions whereas lower case letters denote a significant difference between plant treatments in aerated conditions. .... 91

Figure 4.4: A) Average fluxes of CO<sub>2</sub> equivalents among treatments and B) Proportion of CO<sub>2</sub> equivalents (means, on a percentage basis) as N<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, and CH<sub>4</sub> among wetland treatments. In (B): A = aerated and NA = non-aerated. See Figure 4.3 for details on letter interpretation. .... 93

Figure 4.5: Redundancy analysis of 13 variables (dotted lines) according to wetland treatments and temperature (full lines). Only variables that are well represented in the reduced space are shown (PN, DON, TSS not shown): bold underlined variables = nutrient export, bold underlined italic variables = GHG, underlined italic variables = hydraulic properties, and italic variables = physical and chemical properties. .... 94

## Liste des abréviations et des acronymes

ANOVA	: Analyse de variance / <i>Analysis of variance</i>
°C	: Degrés Celsius
CH <sub>4</sub>	: Méthane / <i>Methane</i>
CO <sub>2</sub>	: Dioxyde de carbone / <i>Carbon dioxide</i>
CO <sub>2</sub> -eq	: Équivalents de CO <sub>2</sub> / <i>CO<sub>2</sub> equivalents</i>
COD / DOC	: Carbone organique dissous / <i>Dissolved organic carbon</i>
D	: Nombre de dispersion / <i>Dispersion number</i>
DCO / COD	: Demande chimique en oxygène / <i>Chemical oxygen demand</i>
Eh	: Potentiel d'oxydo-réduction en mV
ETP	: Évapotranspiration / <i>Evapotranspiration</i>
FSS / SSF	: Flux sous-surfacique / <i>Subsurface flow</i>
GES / GHG	: Gaz à effet de serre / <i>Greenhouse gas</i>
GWP	: <i>Global warming potential</i>
IRBV	: Institut de biologie végétale
MES / TSS	: Matières en suspension / <i>Total suspended solids</i>
N	: Azote / <i>Nitrogen</i>
N <sub>2</sub>	: Diazote / <i>Dinitrogen</i>
N <sub>2</sub> O	: Protoxyde d'azote / <i>Nitrous oxide</i>
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	: Azote ammoniacal / <i>Ammonium</i>
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	: Nitrite / <i>Nitrite</i>
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	: Nitrate / <i>Nitrate</i>
P	: Phosphore / <i>Phosphorus</i>
Redox	: Potentiel d'oxydo-réduction / <i>Oxydo-reduction potential</i>
SD	: <i>Standard deviation</i> (écart-type)
TN	: Azote total / <i>Total nitrogen</i>
TP	: Phosphore total / <i>Total phosphorus</i>
TRH / HRT	: Temps de résidence hydraulique / <i>Hydraulic residence time</i>

## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mes deux directeurs de m'avoir accepté dans leur équipe et surtout pour le nombre incalculable d'heures que je leur ai fait perdre en allant discuter dans leur bureau. Je tiens à remercier ma directrice, Roxane, dont la créativité, la rigueur et le sens critique ont été des éléments cruciaux de mon développement à la maîtrise. Ses commentaires pertinents ont grandement amélioré la qualité du produit final, bien que leur application ne se soit pas toujours fait sans heurts. Je garderai de nombreux souvenirs « artistiques » de toi. Merci aussi à mon co-directeur, Jacques, avec qui j'ai fait mes débuts en recherche. Sa capacité à aiguiller mes réflexions et à reformuler mes idées, de même que sa curiosité, m'impressionnent encore aujourd'hui. Je garde de merveilleux souvenirs de Toronto, de l'Estonie et du lac Saint-François.

Merci aux gens de mes deux labos, qui m'ont beaucoup aidé de multiples façons : Florent pour sa patience et sa modestie française, Yann pour son aide précieuse, Laure pour sa bonne humeur et son sens de l'humour, Catherine pour sa persévérance et ses anecdotes, Dan pour sa pertinence, Vincent pour son enthousiasme contagieux, Jacqueline pour sa curiosité, Bastien pour sa bonne humeur à Saint-Damien, et tous les autres qui m'ont enduré. Je garde également en mémoire ceux que j'ai côtoyés durant ces deux années d'université et dont la présence fut bénéfique.

Un gros merci également à mes parents, qui m'ont transmis l'amour pour les plantes (Kristiane) et la recherche (Michel). À ma sœur également qui essaie encore aujourd'hui, avec peu de succès, de me faire travailler moins. À vous trois, pour avoir essayé de comprendre ce que je faisais, avec des résultats plus ou moins concluants. Enfin, je tiens à remercier particulièrement Marie-Pierre, qui a supporté mes questionnements, mes insécurités et mes railleries. Ta bonne humeur et ton enthousiasme ont été d'importantes sources de motivation et de soutien.

## **CHAPITRE 1 : Introduction générale**

L'utilisation de marais filtrants artificiels – systèmes extensifs, efficaces et relativement peu coûteux – pour traiter divers types d'eaux usées est en croissance constante depuis les dernières années (Vymazal 2005). La plupart des systèmes affichent une efficacité épuratoire générale satisfaisante (Kadlec et Knight 1996), mais l'épuration de l'azote demeure variable et parfois inadéquate, avec une moyenne d'environ 40% d'enlèvement (Kuschik et al. 2003). L'épuration des polluants, bénéfique pour la qualité des eaux, pourrait être contrebalancée de façon négative par la production de plusieurs gaz à effet de serre (GES), ce qui pourrait ternir le bilan global des marais filtrants (Søvik et al. 2006). Par ailleurs, l'impact de facteurs-clés (présence et espèce de plantes, d'oxygénation artificielle, changements saisonniers) dans le contrôle des transformations d'azote et de la production de GES demeure mal compris. À cela s'ajoute l'effet de variables physiques et chimiques sur les transformations d'azote et la production de GES dont les variations sont parfois contrôlées en partie ou en totalité par certains facteurs-clés. L'identification des éléments contrôlant ces deux aspects cruciaux du fonctionnement des marais filtrant (transformation/épuration d'azote, production de GES) est donc primordiale et nécessite des approfondissements.

### *1.1 Généralités sur les marais filtrants*

#### *1.1.1 Mise en contexte de l'utilisation des marais filtrants*

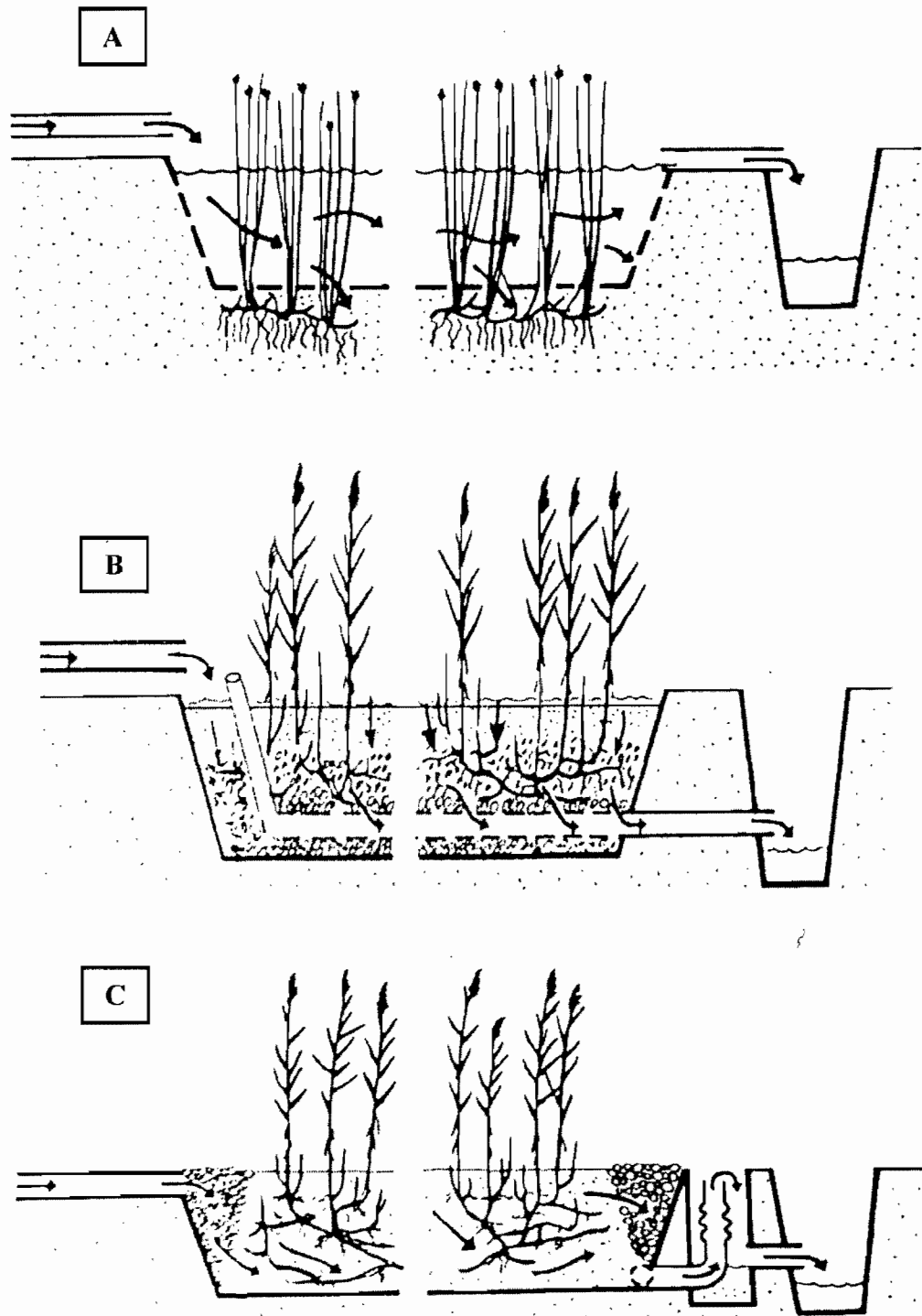
L'agriculture, l'aquaculture et l'urbanisation génèrent des quantités importantes d'eaux usées, entraînant la dégradation des cours d'eau. Si les eaux usées municipales sont surtout traitées par des usines d'épuration conventionnelles (systèmes intensifs), d'autres options plus extensives permettent une épuration satisfaisante à un moindre coût énergétique et financier. Qui plus est, les installations agricoles et piscicoles ne peuvent se

permettre un traitement conventionnel des eaux usées, à cause du nombre important de sources de pollution qui engendrerait des coûts difficilement absorbables par les producteurs. Afin de traiter ces eaux usées de façon durable et efficace, l'utilisation de systèmes de traitement plus extensifs et moins coûteux, dont les marais filtrants artificiels, semble une solution envisageable.

Ces marais filtrants sont généralement utilisés pour effectuer un traitement secondaire, par opposition aux traitements primaires (e. g. filtration grossière et décantation) et tertiaires (e. g. chlorination, traitement des éléments minéraux). L'effluent piscicole dont il sera traité ici est de type secondaire (moins chargé que les eaux usées brutes, surtout en particules), puisqu'il est constitué du surnageant d'un silo de décantation des boues piscicoles prélevées dans les étangs de production.

### *1.1.2 Types de marais filtrants et généralités sur l'épuration*

Les marais filtrants se divisent en deux grandes catégories (Figure 1.1) : les marais à flux surfacique, où l'eau traverse le marais de façon horizontale sans pénétrer dans le substrat, et à flux sous-surfacique, où l'eau pénètre dans le substrat lors de la traversée du marais (Kadlec et Knight 1996). Les marais à flux sous-surfacique sont plus performants que les marais à flux surfacique à cause d'un habitat plus propice à la dégradation bactérienne. Ils se subdivisent en 2 catégories : les marais à flux vertical, dans lesquels l'eau usée est appliquée sur la surface et traverse le substrat par gravité, et les marais à flux horizontal, dans lesquels l'eau traverse le substrat horizontalement sans jamais être en contact direct avec l'air. (Figure 1.1). Les marais à flux vertical sont plus efficaces que les marais à flux horizontal car ils sont en alternance entre l'aérobie et l'anaérobie, mais les marais à flux horizontal ont l'avantage d'être plus résistants au gel. Les marais à flux sous-surfacique horizontal (ou des systèmes hybrides) sont privilégiés en milieu tempéré, afin



**Figure 1.1 – Principaux types de marais filtrants artificiels selon le type d’écoulement (tiré de Drizo (1998)): a) flux surfacique, b) flux sous-surfacique vertical, c) flux sous-surfacique horizontal.**

d'obtenir une épuration satisfaisante durant toute l'année (Werker et al. 2002).

L'épuration dans un marais filtrants peut être divisée en trois types de mécanismes :

- physiques : filtration mécanique par le gravier (important pour MES), décantation et sédimentation des particules, volatilisation (peut être important pour  $\text{NH}_4^+$ , GES) ;
- chimiques : précipitation (important pour les métaux lourds) et adsorption (important pour le phosphore) contrôlées par des mécanismes d'oxydo-réduction ;
- biologiques : transformation par voies bactériennes (respiration, nitrification, dénitrification, etc.), prélèvement direct de nutriments, photosynthèse.

Étant donné la complexité des différents mécanismes d'épuration, plusieurs facteurs peuvent avoir un impact sur les marais filtrants. Parmi eux, trois seront étudiés dans cette étude, soit la présence et l'espèce végétale, la présence d'aération artificielle, et la saison.

### *1.1.3 La présence de plantes au sein de marais filtrants*

Les macrophytes sont habituellement présents au sein des marais filtrants (on parle plutôt de « filtres » lors de l'absence de plantes), mais les espèces varient : *Phragmites australis* est l'espèce la plus utilisée (Tanner 1996), et *Typha spp*, *Phalaris arundinacea*, *Schonenoplectus validus*, *Scirpus spp* sont également très utilisées en milieu tempéré. Les capacités épuratoires de ces macrophytes divergent (Tanner 1996), mais ces différences sont généralement mineures comparativement à l'efficacité supérieure des marais plantés par rapport à ceux qui ne le sont pas (Brix 1997).

Le rôle des plantes peut être séparé entre les rôles des parties aériennes (feuilles, tiges) ou souterraines (racines et rhizomes), les mécanismes attribuables aux parties aériennes étant généralement considérés comme moins importants (Brix 1997). Les principaux mécanismes d'action des parties aériennes sont (Brix 1994, 1997) :

- stockage de nutriments : mineur mais non-négligeable, l'importance relative de ce



mécanisme d'épuration diminue avec l'augmentation de la charge en nutriments ;

- transpiration : permet d'augmenter le temps de résidence estival ;
- isolation durant l'hiver : maintient une température moyenne hivernale plus élevée ;
- création d'habitats supplémentaires pour la faune (oiseaux, amphibiens, insectes, etc.) ;
- esthétique : permet une meilleure acceptation sociale de ces systèmes.

En contrepartie, on assume généralement que les parties souterraines jouent un rôle plus important que les parties aériennes (Brix 1994, 1997) :

- milieu favorable à la croissance bactérienne : les bactéries sont plus abondantes (100 à 1000 fois plus) sur la surface des racines que sur le gravier (Kadlec et Knight 1996) ;
- diffusion d'oxygène dans la rhizosphère : généralement considéré comme le principal effet des plantes. La diffusion d'oxygène via des tissus creux appelées aerenchymes est très variable d'une plante à une autre ( $0.02 - 12 \text{ g O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) (Brix 1997) et génère une zone oxygénée (1-4mm) autour des racines, avec un gradient allant de  $Eh \approx -250 \text{ mV}$  à  $Eh \approx 500 \text{ mV}$  à la surface des racines (Stottmeister et al. 2003) ;
- source de matière organique : exsudats, sécrétions, débris morts, etc. peuvent supporter l'hétérotrophie bactérienne, via la dénitrification par exemple (Picek et al. 2007);
- régulation de l'écoulement hydraulique : la présence de racines permettrait d'éviter les courts-circuits hydrauliques, mais cela reste controversé (Brix 1997);
- stockage de nutriments : équivalent au stockage aérien mais récolte difficile.

Les espèces végétales diffèrent et on pourra s'intéresser à leurs différentes caractéristiques afin d'utiliser des plantes moins envahissantes, préférablement indigènes, tout en maintenant une épuration satisfaisante. Par exemple, on évitera les espèces comme *P. australis* et *P. arundinacea* au Québec et on privilégiera les espèces moins envahissantes (e. g. *T. angustifolia*) si elles sont aussi efficaces que leurs consœurs plus envahissantes.

#### *1.1.4 La présence d'aération artificielle au sein de marais filtrants*

Tanner et Kadlec (2003) ont démontré que l'apport en oxygène attribuable aux plantes était insuffisant pour obtenir une épuration complète (surtout pour l'azote). On a donc proposé d'augmenter la disponibilité de l'oxygène dans ces systèmes, par des aménagements (systèmes hybrides, surfaces d'eau libre, etc.) ou l'aération forcée en entrée du marais (Davies et Bart 1990). Les aménagements sont performants mais ils comportent un risque accru de gel, ce qui favorise l'utilisation de l'aération artificielle, qui permet une oxygénation même lorsque les plantes sont en dormance et un risque moins important de gel. Cette technologie a déjà été utilisée avec succès (Davies et Bart 1990, Cottingham et al. 1999), mais l'optimisation de son utilisation (localisation et fréquence de l'aération) de même que les interactions avec d'autres facteurs (e. g. plantes) demeurent nébuleuses.

#### *1.1.5 L'effet des saisons au sein des marais filtrants*

Le climat affecte aussi les performances épuratoires dans les marais filtrants, via la baisse de la photopériode et des températures en hiver qui amènent les plantes dans un état de dormance et diminue l'intensité des processus actifs qui stimulent l'épuration (libération d'oxygène et d'exsudats dans la rhizosphère, prélèvement direct, etc.). Les bactéries sont également affectées par les faibles températures : dégradation biologique optimale d'azote en marais entre 20 et 25°C (Spieles et Mitsch 2000), métabolisme bactérien inefficace sous 5°C (Werker et al. 2002). La plus grande solubilité de l'oxygène dans l'eau froide et une plus faible compétition pour l'oxygène entre les bactéries pourraient stimuler l'épuration hivernale (Stein et Hook 2005), mais l'effet généralement observé est une baisse de l'efficacité épuratoire en hiver à cause d'un ralentissement du métabolisme bactérien (Werker et al. 2002).

## 1.2 Le cycle de l'azote au sein des marais filtrants

L'azote est un élément central de la vie terrestre et aquatique, et un apport excessif peut avoir des conséquences néfastes sur les milieux naturels (e. g. eutrophisation). Il est primordial de limiter les exportations d'azote vers les milieux naturels afin de conserver leur intégrité, et plusieurs auteurs ont donc étudié l'épuration de l'azote dans les marais filtrants (Tanner et al. 2002, Kadlec et al. 2005). La figure 1.2 illustre le cycle simplifié de l'azote dans les marais filtrants, avec la prédominance de la nitrification/dénitrification.

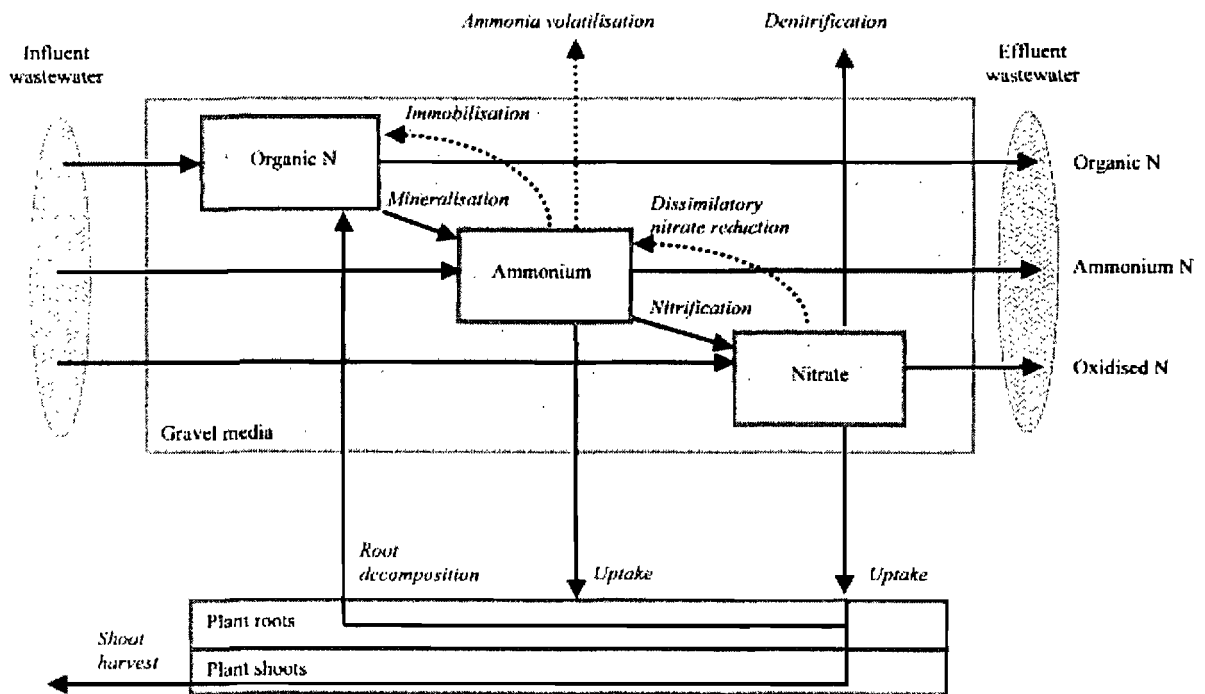


Figure 1.2 – Cycle simplifié de l'azote au sein des marais filtrants (tiré de Tanner et al. (2002))

### 1.2.1 La voie principale de dégradation de l'azote : la nitrification/dénitrification

Quand l'azote est sous forme organique en entrée du marais (c'est le cas pour cette étude), la cascade de dégradation débute par l'ammonification de l'azote, soit la conversion de l'azote organique en  $\text{NH}_4^+$  par des bactéries hétérotrophes (Figure 1.2). Cette voie

(favorisée par l'aérobie, l'inondation du substrat, des températures élevées, un pH neutre) est cinétiquement plus rapide que la nitrification et n'est pas considérée comme limitante, sauf lorsque l'azote est sous forme très réfractaire (Kadlec et Knight 1996).

Les bactéries nitrifiantes convertiront ce  $\text{NH}_4^+$  en nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) puis en nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) par un processus chéméo-autotrophe (le bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) est la source de carbone) aérobic appelé nitrification. Selon l'équation globale ( $\text{NH}_4^+ + 1,86 \text{O}_2 + 1,98 \text{HCO}_3^- \rightarrow 0,98 \text{NO}_3^- + 1,88 \text{H}_2\text{CO}_3 + 1,04 \text{H}_2\text{O} + 0,020 \text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$ ) et des résultats empiriques, il faut entre 4,25 et 4,33 mg d'oxygène pour dégrader 1 mg de N (Tanner et Kadlec 2003). Cette réaction se déroule en deux temps : l'oxydation de  $\text{NH}_4^+$  en  $\text{NO}_2^-$  (le genre bactérien *Nitrosomas* est le plus commun), puis l'oxydation de  $\text{NO}_2^-$  en  $\text{NO}_3^-$  (le genre *Nitrobacter* est le plus commun) (Davies et Bart 1990). La nitrification peut produire du protoxyde d'azote ( $\text{N}_2\text{O}$  ; puissant gaz à effet de serre) comme sous-produit (voir section 1.3 sur les GES). Les bactéries nitrifiantes sont généralement de 10 à 100 fois moins nombreuses que les bactéries minéralisatrices ou dénitrifiantes dans les marais filtrants, et plus abondantes au printemps et à l'automne (Kadlec et Knight 1996). On les retrouve également confinées à la zone oxygénée située à la surface (épaisseur : 100-150 $\mu\text{m}$ ) des particules et des agrégats (Kowalchuk et Stephen 2001).

Les bactéries autotrophes sont moins compétitives que les bactéries hétérotrophes pour l'acquisition de l'oxygène (Stein et Hook 2005), et la disponibilité en oxygène est considérée comme le facteur régulateur le plus important de la nitrification (Firestone et Davidson 1989). D'ailleurs, une trop forte demande en oxygène et/ou un trop faible apport en oxygène inhibent la nitrification (concentrations inférieures à  $\sim 0,3 \text{ mg O}_2/\text{L}$  ; Kadlec et Knight 1996) et font chuter les performances épuratoires (Tanner et Kadlec 2003). Ce déficit en oxygène est fréquent pour les marais sous-surfaciques dans lesquels on considère que la nitrification est l'étape limitante pour l'épuration de l'azote (Kuschik et al. 2003).

La température peut également affecter les taux de nitrification : inhibition importante sous 10°C, taux quasi-nuls sous 6°C (Werker et al. 2002), optimum de croissance des bactéries nitrifiantes entre 15°C et 30°C (Speiles et Mitsch 2000). Le pH régule la disponibilité de NH<sub>3</sub> (forme utilisée durant la réaction, en équilibre avec la forme NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en milieu aquatique) et la complétion de l'oxydation de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (pH>6) et de l'oxydation de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (pH<8) (Kowalchuk et Stephen 2001). Réciproquement, la consommation de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> acidifie le milieu où se déroule la nitrification (Kowalchuk et Stephen 2001). Enfin, un milieu riche en azote avec un faible ratio C:N (e. g. eaux usées) rend les bactéries nitrifiantes plus compétitives par rapport aux bactéries hétérotrophes (Kowalchuk et Stephen 2001).

Suite à la nitrification, le NO<sub>3</sub><sup>-</sup> produit sera réduit par des bactéries hétérotrophes lors de la dénitrification, une réaction en 4 étapes (NO<sub>3</sub><sup>-</sup> → NO<sub>2</sub><sup>-</sup> → NO<sup>-</sup> → N<sub>2</sub>O → N<sub>2</sub>) avec le N<sub>2</sub> comme produit principal, La réaction complète ( $NO_3^- + 1,08 CH_3OH + 0,24 H_2CO_3 \rightarrow 0,056 C_5H_7NO_2 + 0,47 N_2 + 1,68 H_2O + HCO_3^-$ ) nécessite 2,47 g de méthanol pour permettre la dégradation de 1 g d'azote (Kadlec et Knight 1996), bien que le ratio optimal réel serait plutôt de 3,5 g de carbone pour 1 g de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Lin et al. 2002). Le carbone organique est souvent déficitaire par rapport au NO<sub>3</sub><sup>-</sup> de sorte que la dénitrification est fréquemment incomplète (production plus élevée de N<sub>2</sub>O) ou carrément inhibée (Speiles et Mitsch 2000). La dénitrification peut être initiée directement à partir des nitrites (Kadlec et Knight 1996).

Les bactéries dénitrifiantes sont des bactéries anaérobies facultatives (genres les plus communs : *Bacillus*, *Enterobacter*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Spirillum*), soit un trait bactérien plus répandu que la capacité de nitrifier, et elles utiliseront la respiration aérobie, plus rentable énergétiquement que la dénitrification, en présence d'oxygène (Kadlec et Knight 1996). Les bactéries dénitrifiantes sont plus abondantes (100 à 1000 fois)

dans les marais filtrants par rapport aux marais naturels et au printemps/été (10 fois) par rapport à l'automne/hiver (Kadlec et Knight 1996).

La dénitrification complète requiert un apport suffisant mais pas excessif en  $\text{NO}_3^-$ , un apport suffisant en carbone labile, et des conditions d'anaérobiose complète (Davies et Bart 1990). L'apport en  $\text{NO}_3^-$  peut être limité par la nitrification en amont du marais, tandis qu'un apport excessif favorisera une dénitrification incomplète car la réduction de  $\text{NO}_3^-$  est plus rentable énergétiquement que la réduction de  $\text{N}_2\text{O}$  (Spieles et Mitsch 2000). Un déficit en carbone labile peut être causé par un manque de carbone à la source ou par une consommation importante par le métabolisme bactérien hétérotrophe aérobie (Stein et Hook 2005). La synthèse des différentes enzymes de la dénitrification suit la décroissance des concentrations d'oxygène dans le milieu, et un milieu trop aérobie inhibera la synthèse des enzymes terminales, empêchant la dénitrification complète (Zumft 1997).

Par ailleurs, la tolérance de la dénitrification à de faibles températures est plus élevée que celle de la nitrification, avec des taux quantifiables à 2-5°C (Firestone et Davidson 1989, Werker et al. 2002). La dénitrification est résiliente face aux écarts de pH (réaction possible entre des pH de 4 à 11) bien qu'un pH légèrement basique soit favorable, conditions habituellement observées dans les marais (Knowles 1982, Spieles et Mitsch 2000). Les nombreuses enzymes nécessaires pour la complétion de la réaction requièrent des métaux (Fe, Cu, Mo) et leur disponibilité pourrait affecter la synthèse des enzymes et les taux de réaction (Zumft 1997).

La nitrification est considérée comme l'étape limitante de l'épuration de l'azote, mais l'inhibition de l'épuration de l'azote peut se faire à d'autres niveaux, avec des conséquences différentes selon le processus inhibé. À cet effet, il faut maximiser l'épuration d'azote total, atteindre le stade le plus avancé dans la cascade de dégradation et exporter la forme ( $\text{NO}_3^-$  plutôt que  $\text{NH}_4^+$  ou azote organique) permettant une épuration

rapide dans les milieux récepteurs et une toxicité moindre pour la vie animale. Le suivi de la spéciation de l'azote est de plus en plus effectué (Tanner et al. 2002), mais plusieurs tirent encore des conclusions à partir de mesures générales inappropriées (e. g. azote total).

### 1.2.2 L'effet des macrophytes sur le cycle de l'azote

Les macrophytes peuvent prélever l'azote sous la forme  $\text{NH}_4^+$  (préférée) ou  $\text{NO}_3^-$ , un phénomène surtout printanier et estival. Le prélèvement végétal est considéré comme un processus mineur mais non-négligeable dans l'épuration de l'azote, contribuant à 6-25% de l'épuration totale (Xue et al. 1999, Bachand et Horne 2000, Tanner et al. 2002). Les rhizomes (durée de vie : ~ 1,5 - 3 ans) de *Typha spp* et *P. australis* ont un contenu similaire en azote à celui des parties aériennes, mais le prélèvement de la biomasse souterraine n'est pas recommandé (Kadlec et Knight 1996). La transpiration estivale bonifierait les propriétés hydrauliques du marais (e. g. temps de résidence) et stimulerait l'épuration, mais cela reste débattu (Brix 1994). Ainsi, on considère que la supériorité des marais plantés réside plutôt en une biomasse bactérienne plus importante et plus active (Gagnon et al. 2007).

Les macrophytes oxygènent la rhizosphère et stimulent la nitrification et l'épuration générale d'azote grâce à la création d'une matrice hétérogène dans la rhizosphère (Brix 1997). Les plantes peuvent fournir du carbone pour stimuler la dénitrification (entre 25% et 33% des besoins des marais (Picek et al. 2007)), et un fort ratio racines:tiges stimule l'épuration d'azote (Kuschik et al. 2003). Ainsi, les bactéries minéralisatrices, nitrifiantes et dénitrifiantes sont plus abondantes (100 à 1000 fois plus) sur la surface des racines par rapport au gravier (Kadlec et Knight 1996).

La plupart des études (Kadlec et Knight 1996, Brix 1997) n'ont pas rapporté de différences significatives claires entre les espèces pour l'épuration de l'azote, ce qui

s'applique à *P. australis*, *T. angustifolia* et *P. arundinacea* (Brisson et Chazarenc, sous presse). Bastviken et al. (2005) ont observé une capacité similaire pour stimuler la dénitrification entre les détritux de *P. australis* et *Typha latifolia*. D'autres ont rapporté que *P. australis* était supérieure à *Typha spp* pour la dénitrification, qu'elle était inférieure à *Typha spp* pour la minéralisation et que les deux plantes s'équivalaient pour la nitrification (Liu et al. 2005). Bien que l'effet de l'espèce ait été effectivement étudié fréquemment, l'utilisation de dispositifs expérimentaux peu adaptés pour tester les hypothèses issues de cette question de façon indépendante ne permet pas de tirer des conclusions générales avec certitude (Brisson et Chazarenc Sous presse).

### 1.2.3 L'effet de l'aération artificielle sur le cycle de l'azote

Malgré l'apport d'oxygène des plantes, la nitrification demeure souvent inhibée dans les marais plantés, et on a implanté un apport d'aération artificielle pour bonifier l'oxygénation fournie par les plantes et la remplacer lorsque celles-ci sont absentes/dormantes (Davies et Bart 1990). L'ajout artificiel d'oxygène semble stimuler la rétention d'azote en permettant une nitrification plus efficace grâce à une rhizosphère plus oxygénée (Higgins 2003). L'aération artificielle pourrait aussi améliorer les performances hydrauliques en limitant l'accumulation de MES dans les pores du substrat des marais, mais cet effet n'a pas été démontré de façon convaincante (Ouellet-Plamondon 2004). L'aération artificielle interagit positivement avec les macrophytes, de sorte que les performances les plus intéressantes sont obtenues lorsque ces deux facteurs sont combinés (Ouellet-Plamondon et al. 2006). Cet ajout d'oxygène a été installé à l'entrée des marais utilisés dans cette étude (environ 25% de la surface), afin de maximiser la nitrification et la conversion en  $\text{NO}_3^-$ . Le reste de la matrice demeure plus anaérobie et favorable à la dénitrification complète.



#### *1.2.4 L'effet de la saison sur le cycle de l'azote*

La plupart des études (Kadlec et Knight 1996, Maehlum et Stålnacke 1999) concluent que l'épuration d'azote estivale est supérieure aux performances hivernales (contribution plus importante des macrophytes, températures favorables aux mécanismes bactériens). Toutefois, certains chercheurs (Stein et Hook 2005) ont récemment observé l'inverse, soit une plus grande nitrification l'hiver (moins de compétition pour l'oxygène par les hétérotrophes et les racines des plantes), ou une dénitrification restreinte à des températures inférieures à 15°C (Kuschik et al. 2003). La variabilité des systèmes étudiés permet d'expliquer partiellement ces différences, mais le caractère opposé de ces conclusions laisse planer le doute sur l'effet réel (stimulant ou inhibiteur) de la saisonnalité.

#### *1.2.5 Les autres processus reliés à l'azote en marais filtrants*

La nitrification/dénitrification est considérée comme la voie principale de dégradation de l'azote au sein des marais filtrants, mais son importance varie d'un système à l'autre et selon la méthode de mesure choisie. La proportion attribuée à la dénitrification par les méthodes directes (e. g. production de N<sub>2</sub>, isotopes stables) est généralement plus modeste (8% à 53% de l'enlèvement d'azote) que l'approche indirecte par bilan de masse (60% à plus de 85% de l'enlèvement d'azote) (Xue et al. 1999, Bachand et Horne 2000, Lund et al. 2000, Smith et al. 2000, Tanner et al. 2002, Poe et al. 2003). Des différences au niveau des effluents traités (e. g. contenu en NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) ou des systèmes employés peuvent expliquer en partie ces résultats divergents, mais l'importance de la nitrification/dénitrification demeure un sujet à approfondir.

D'ailleurs, outre cette voie classique, plusieurs autres processus permettent la transformation de l'azote (Figure 1.2), et leur importance varie d'un système à l'autre :

- La réduction dissimilatoire du nitrate en ammonium ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NH}_4^+$ ) compte pour moins du tiers de l'enlèvement de  $\text{NO}_3^-$  (Kadlec et Knight 1996). Elle nécessite des conditions d'anaérobie complète, une forte disponibilité en carbone par rapport à celle du  $\text{NO}_3^-$ , et est donc considérée comme généralement marginale (Rückauf et al. 2004). Puisqu'elle n'épure pas tout en « gaspillant » du carbone, on cherche à l'inhiber ;
- La fixation biologique ( $\text{N}_2 \rightarrow \text{NH}_3$ ) ne devrait pas être importante dans un milieu riche en azote comme un marais filtrant (Kadlec et Knight 1996). La fixation observée en marais filtrants est d'une importance négligeable (12 à 190 mg N m<sup>-2</sup> an<sup>-1</sup>), mais les taux sont plus élevés en marais naturels avec *Typha* spp (jusqu'à ~ 67 mg N m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>) ce qui pourrait indiquer une importance plus grande que prévue (Kadlec et Knight 1996) ;
- La volatilisation de l'ammonium joue un rôle négligeable car l'ammonium non-ionisé ( $\text{NH}_3$ ) et volatilisable compte pour moins de 1% de l'azote ammoniacal en conditions normales d'exploitation d'un marais filtrant (pH < 8,  $[\text{NH}_4^+] < 20$  mg/L, températures entre 0 et 25 °C) (Kadlec et Knight 1996, Tanner et Kadlec 2003) ;
- L'assimilation bactérienne est importante pour l'épuration lors de l'établissement du marais (jusqu'à 15% de l'épuration) mais devient minimale ensuite (Silvan et al. 2003) ;
- L'oxydation anaérobie de l'ammonium (ANAMMOX) permet la conversion de  $\text{NH}_4^+$  et de  $\text{NO}_2^-$  en  $\text{N}_2$  directement sans produire de  $\text{N}_2\text{O}$ . Son étude dans les marais filtrants est encore qualitative ou effectuée de façon indirecte (Dong et Sun 2007). L'importance de ce processus requérant des conditions d'anaérobie stricte semble chuter avec la hausse de la disponibilité en matière organique, du moins en milieu naturel (Codispoti et al. 2005) ;
- Les processus non biologiques (sédimentation, précipitation, adsorption) pourraient être plus importants que prévu : jusqu'à 37% de l'épuration (Kadlec et al. 2005). Ces

processus sont souvent intégrés aux estimations de dénitrification dans les bilans de masse indirects et cette situation contribue à sous-estimer leur importance (Lund et al. 2000). Toutefois, l'azote retenu par les marais via ces processus pourra éventuellement alimenter les autres voies métaboliques telles que la dénitrification car cet azote demeure utilisable par les bactéries.

La variabilité et l'incertitude qui entourent ces différents processus d'épuration alternatifs font en sorte que l'importance de la nitrification/dénitrification demeure au centre d'un débat animé au sein de la communauté scientifique. L'approche adoptée ici considère que la nitrification/dénitrification est la voie majeure d'épuration de l'azote, bien que d'autres processus ignorés aient pu avoir un rôle plus important que supposé.

### *1.3 Les émissions de GES au sein des marais filtrants*

Parallèlement aux études portant sur l'efficacité épuratoire des marais filtrants, d'autres se sont attardées aux émissions de formes gazeuses issues des cycles du carbone et de l'azote dont certaines sont de puissants GES. Outre le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ), les marais émettent du méthane ( $\text{CH}_4$ , potentiel de réchauffement égal à ~23 fois celui du  $\text{CO}_2$  sur un horizon de 100 ans) et du protoxyde d'azote ( $\text{N}_2\text{O}$ , potentiel de réchauffement égal à ~296 fois celui du  $\text{CO}_2$  sur un horizon de 100 ans, et potentiel de destruction d'ozone) (IPCC 2001). Ces gaz sont issus de différentes voies métaboliques surtout bactériennes qui sont utilisées en cascade de la plus rentable à la moins rentable en énergie (Tableau 1.1). Ces changements métaboliques pourront amener des changements au sein des communautés bactériennes, car plusieurs réactions sont spécifiques à certains taxons.

**Tableau I :** Rendements énergétiques (kilocalories produites par mole de réducteur oxydé) pour différentes réactions REDOX (modifié de Fenchel et Blackburn 1979)

<b>Réactions métaboliques</b>	<b>Paire REDOX : Réducteur + Oxydant</b>	<b>Rendement énergétique (kcal/mol)</b>
Respiration aérobie	glucose + O <sub>2</sub>	686
Dénitrification	glucose + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	649 *
Oxydation des sulfures	HS <sup>-</sup> + O <sub>2</sub>	190
Oxydation du NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (nitrification)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + O <sub>2</sub>	66
Fermentation	glucose -> lactate, éthanol	58
Oxydation du NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (nitrification)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + O <sub>2</sub>	18
Respiration (réduction) du sulfate	lactate + SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	9,7
Méthanogénèse	H (ou acétate) + CO <sub>2</sub>	8,3

\* Kadlec et Knight (1996) considèrent plutôt le rendement énergétique de la dénitrification à ~ 570 kcal/mol de glucose

### *1.3.1 Les principaux GES*

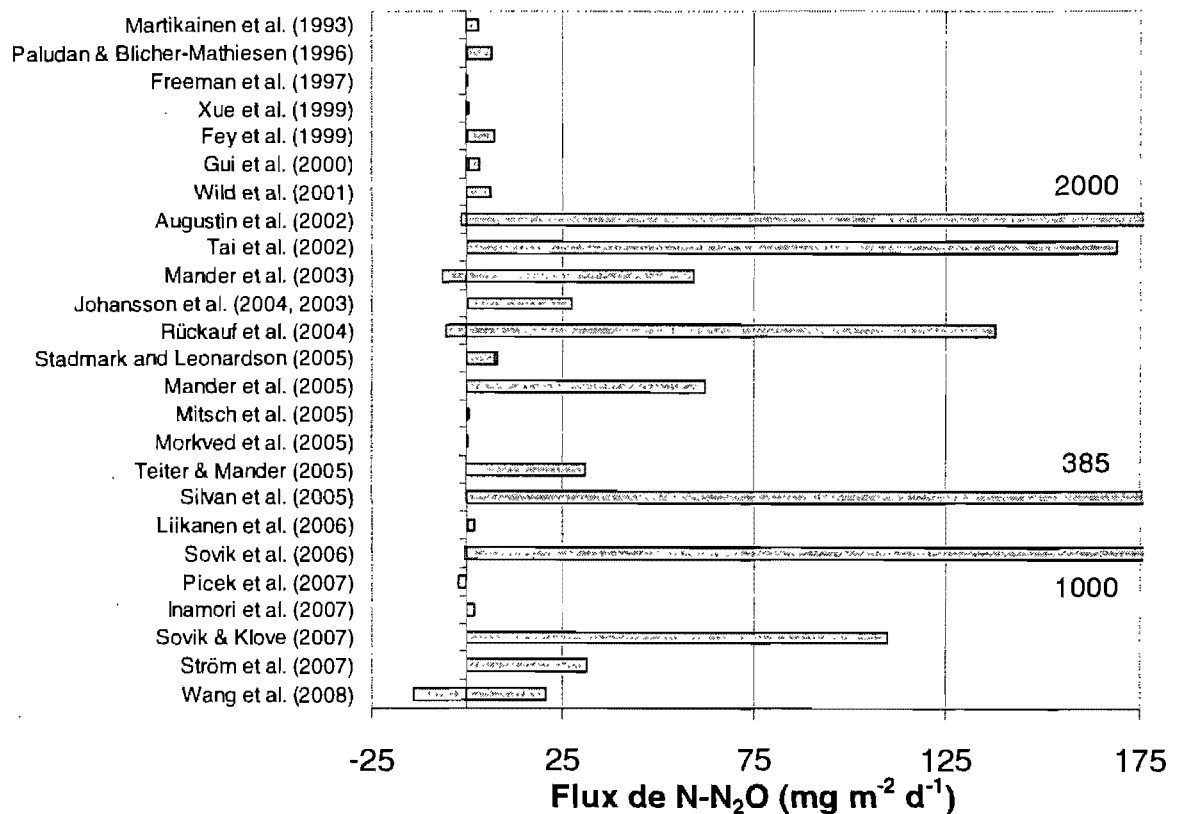
#### *1.3.1.1 Le protoxyde d'azote*

Le N<sub>2</sub>O est un sous-produit de la nitrification et un intermédiaire réactionnel de la dénitrification, deux processus décrits dans la section 1.2. La dénitrification est la source principale présumée de N<sub>2</sub>O malgré une production beaucoup plus importante de N<sub>2</sub> (Tableau 1.1). L'enlèvement du N<sub>2</sub>O se fait principalement via la dénitrification complète lorsque le NO<sub>3</sub><sup>-</sup> est peu abondant et qu'il devient plus favorable pour les bactéries d'utiliser le N<sub>2</sub>O comme accepteur d'électron.

Les études consacrées aux flux de GES provenant de marais filtrants rapportent des émissions variables (Figure 1.3). Toutefois, ces flux de N<sub>2</sub>O et les ratios N<sub>2</sub>O:N<sub>2</sub> (un rapport qui met en lumière l'efficacité de la dénitrification) sont relativement plus faibles que ceux d'usines d'épuration conventionnelles (Johansson et al. 2003) et dans le bas de la gamme des valeurs rapportées pour les sédiments naturels (Seitzinger et al. 2000).

Les émissions de N<sub>2</sub>O lors de la nitrification sont plus élevées lorsque le milieu est

pauvre en oxygène et acide (Firestone et Davidson 1989). La production de N<sub>2</sub>O lors de la dénitrification est favorisée par une hausse de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> et de O<sub>2</sub>, un manque de carbone labile, un pH acide, une température froide et de fortes concentrations de sulfures (Firestone et Davidson 1989). Ainsi, tout facteur ayant un impact sur ces variables pourra avoir un impact significatif sur la production de N<sub>2</sub>O.



**Figure 1.3 :** Étendue des flux de N-N<sub>2</sub>O rapportés dans la littérature.

### 1.3.1.2 Le méthane

Le CH<sub>4</sub> est issu de la méthanogénèse ( $4 H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2 H_2O$  ou  $4 H_2 + CH_3COO^- \rightarrow 2CH_4 + H_2O + OH^-$ ), un processus anaérobie peu efficace effectué par des prokaryotes méthanogènes appartenant au domaine *Archaea* (Sekiguchi et al. 1998). La

méthanogénèse est souvent observée conjointement avec d'autres processus anaérobies et peu efficaces tels que la réduction des sulfates, qui produit des sulfures ( $\text{HS}^-$ ) toxiques pour les autres taxons bactériens. Le méthane peut être oxydé par les prokaryotes méthanotrophes, ce qui nécessite un accepteur d'électron tel que l'oxygène ( $\text{CH}_4 + 2 \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$ ), le  $\text{NO}_3^-$  ou le  $\text{SO}_4^{2-}$  (Zhu et al. 2007).

La méthanogénèse étant un processus anaérobie, les éléments régulateurs principaux sont la disponibilité en oxygène et en substrat carboné (Fenchel et al. 1998). La production de  $\text{CH}_4$  est aussi affectée par la température (positivement) et les nitrates (négativement) (Stadmark et Leonardson 2005), de même que le niveau d'eau du marais et le type de substrat (Grünfeld et Brix 1999), qui sont tous deux constants dans cette étude.

#### *1.3.1.3 Le dioxyde de carbone*

Le  $\text{CO}_2$  est produit par la respiration aérobie ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{O}_2 \rightarrow 6 \text{CO}_2 + 6 \text{H}_2\text{O}$ ) ou non (e. g. réduction du sulfate, dénitrification), et est recyclé par les plantes via la photosynthèse (Fenchel et al. 1998). Toutefois, les plantes respirent et produisent du  $\text{CO}_2$ , et ceci rend la détermination du bilan net en  $\text{CO}_2$  ardu (Ström et al. 2007). On s'attendra donc à ce que les variables qui font croître le métabolisme bactérien et la disponibilité des donneurs (matière organique) et des accepteurs (oxygène, nitrate, sulfate) d'électrons amènent une hausse des flux de  $\text{CO}_2$  (Fenchel et al. 1998).

#### *1.3.2 L'effet des plantes sur les GES*

L'apport d'oxygène dans la rhizosphère par les plantes pourrait inhiber la méthanogénèse et la dénitrification complète (hausse des flux de  $\text{N}_2\text{O}$ ). La diffusion de carbone via les plantes pourrait également stimuler la dénitrification complète (flux plus faibles en  $\text{N}_2\text{O}$ ) et la production de  $\text{CH}_4$  et de  $\text{CO}_2$ . Des biomasses bactériennes plus élevées

et plus actives dans les marais plantés pourraient aussi stimuler la production de CO<sub>2</sub>. La présence de plantes pourrait enfin permettre l'existence de communautés bactériennes plus diversifiées, à cause de l'hétérogénéité que les plantes génèrent autour de leurs racines. Cette hétérogénéité à très petite échelle pourrait permettre la présence simultanée de communautés aux besoins contrastés en oxygène et en carbone à proximité les unes des autres. Grâce à des micro-zones distinctes générées par l'effet des plantes sur la rhizosphère, on pourrait ainsi observer la présence de processus opposés (e. g. respiration aérobie et méthanogénèse) au sein d'un même marais.

Plusieurs études se sont attardées à l'effet de la présence de plantes sur les GES, mais les résultats ne sont pas consensuels. Les marais plantés émettent généralement moins de N<sub>2</sub>O que les marais non plantés (Wild et al. 2001, Silvan et al. 2005, Wang et al. 2008), mais il existe des exceptions (Rückauf et al. 2004, Mitsch et al. 2005, Ström et al. 2007). La présence de plantes peut également stimuler (Wild et al. 2001, Ström et al. 2007) ou diminuer (Grünfeld et Brix 1999, Picek et al. 2007) les flux de CH<sub>4</sub>, et elles font hausser les flux de CO<sub>2</sub> (Ström et al. 2007). Les mécanismes cités plus haut peuvent expliquer ces résultats, mais la difficulté à établir le bilan net des plantes par rapport au CO<sub>2</sub> limite les interprétations et pourrait remettre en question le rôle des marais comme puits de GES (Brix et al. 2001). Enfin, le cycle circadien des végétaux (production d'oxygène le jour et consommation la nuit) ne semble pas faire varier les flux de GES (Tai et al. 2002), bien qu'un pic d'émission le jour ait été observé par certains pour le CH<sub>4</sub> (Grünfeld et Brix 1999).

Les résultats sont tout aussi ambigus quant au rôle de l'espèce végétale. On a rapporté que les zones plantées avec *P. australis* émettaient plus de GES (CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O) que celles plantées avec *T. latifolia* (Ström et al. 2007). Les émissions de GES (N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub>) chez *P. arundinacea* sont similaires ou plus élevées que chez *Typha spp* (Johansson et al. 2003,

2004), mais plus faibles que chez *P. australis* pour le N<sub>2</sub>O (Rückauf et al. 2004). On peut certes tirer quelques conclusions de ces analyses inter-études, mais le faible nombre de dispositifs expérimentaux adéquats pour tester l'effet de l'espèce limite la portée de ces conclusions. Par exemple, la comparaison entre *P. arundinacea* et *Typha spp/P. australis* nécessite deux expériences complètement différentes (Johansson et al. 2003, 2004: taille réelle, cellules en série, climat extérieur ; Rückauf et al. 2004: microcosmes, marais naturels, climat contrôlé), ce qui ne permet pas la distinction entre l'effet des espèces végétales et celui des autres facteurs. À cela s'ajoute l'absence fréquente de témoins non-plantés, et on peut aisément conclure que la détermination du rôle des plantes et de leur espèce dans les flux de GES nécessite de sérieux éclaircissements.

### *1.3.3 L'effet de l'aération artificielle sur les GES*

Il a été impossible de recenser une étude portant sur l'effet de l'aération artificielle sur les flux de GES. L'ajout d'oxygène pourrait inhiber la dénitrification complète (hausse des flux de N<sub>2</sub>O) et la production de CH<sub>4</sub>, sans toutefois affecter significativement la production de CO<sub>2</sub>. L'impact de l'aération artificielle sur les flux globaux de GES reste également à déterminer, à savoir si l'impact néfaste supposé sur le N<sub>2</sub>O sera plus grand, plus faible ou équivalent à l'impact bénéfique supposé sur le CH<sub>4</sub>.

### *1.3.4 L'effet de la saison sur les GES*

L'impact du climat sur les flux de GES varie d'une étude à l'autre et les tendances saisonnières du N<sub>2</sub>O semblent plus variables que celles pour le CH<sub>4</sub>. Si certaines études (Tai et al. 2002, Søvik et Klove 2007) ont observé des flux de N<sub>2</sub>O plus élevés et plus faibles pour le CH<sub>4</sub> en automne/hiver, la plupart des études (Stadmark et Leonardson 2005, Søvik et al. 2006, Inamori et al. 2007, Wang et al. 2008) ont plutôt constaté que les



flux de  $N_2O$  et/ou de  $CH_4$  étaient plus élevés en été. Les flux de  $CO_2$  semblent plus élevés en été qu'en hiver (Søvik et al. 2006). Par ailleurs, Søvik et al. (2006) ont rapporté que la contribution globale aux GES du  $N_2O$  était supérieure à celle du  $CH_4$  en hiver, que l'inverse se produisait en été, et que le  $CO_2$  avait une contribution égale ou supérieure aux deux autres gaz durant l'hiver.

Les flux estivaux et hivernaux plus élevés de  $N_2O$  peuvent être respectivement attribués à un métabolisme estival plus important de l'azote et à une dénitrification hivernale moins efficace, à quoi peuvent s'ajouter des réponses divergentes à d'autres caractéristiques du système (disponibilité du  $NO_3^-$ , carence en carbone labile, etc.). La plus forte demande en oxygène estivale et la plus faible solubilité de l'oxygène dans l'eau chaude (Stein et Hook 2005) favorisent les mécanismes anaérobies, ce qui pourrait expliquer les flux estivaux plus élevés de  $CH_4$ . L'augmentation des flux de  $CO_2$  avec de plus fortes températures estivales (Søvik et al. 2006) ou dues au réchauffement climatique (hausse de  $3^\circ C$  en 15 ans ; Liikanen et al. 2006) peuvent s'expliquer par une activité bactérienne plus importante.

#### *1.4 Considérations méthodologiques sur les gaz*

Il existe plusieurs approches différentes, voire opposées, pour l'étude des GES, ce qui se traduit par des méthodes divergentes d'échantillonnage (équilibrations, chambres, etc.) et de modélisation des flux (Smith et al. 1983, Cole et Caraco 1998).

##### *1.4.1 Mesures avec utilisation de chambres*

L'étude des flux de gaz en marais filtrants se fait généralement par des mesures en chambre (close, statique) et la modélisation par divers modèles (voir Smith et al. 1983). Brièvement, on pose une chambre sur la surface et l'accumulation (linéaire) de gaz dans le

temps (~ 1h) dans la chambre est ensuite utilisée pour calculer le flux, selon cette formule :

$$Flux = \frac{\Delta_{gaz} * V}{S * V_{mol}}$$

où le flux est en mmol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>,  $\Delta_{gaz}$  est l'accroissement de gaz dans le temps, V est le volume de la chambre, S est la surface de la chambre,  $V_{mol}$  est le volume molaire.

L'avantage principal de cette méthode est qu'elle calcule un flux directement qu'on considère généralement comme le « vrai » flux. Les mesures par chambre peuvent toutefois surestimer les flux réels (Matthews et al. 2003), varier selon la configuration de la chambre (taille, ratio surface/volume, ratio largeur longueur, forme, etc.), et perturber le milieu et les mécanismes régulant les flux, en lien ou non avec les plantes (arrêt du vent, élimination de la lumière). Également, la conversion des flux instantanés en flux moyens (e. g. journalier) n'est pas toujours facile et l'échantillonnage par chambre peut devenir rapidement problématique lors d'un échantillonnage exhaustif (temps de mesure, nombre requis).

#### *1.4.2 Mesures avec des concentrations mesurées et des modèles de flux*

On peut également mesurer des flux à partir de concentrations obtenues par l'équilibration des phases gazeuses et aqueuses (selon Richey et al. 1988) et d'un modèle de calcul des flux. C'est la méthode qui a été utilisée dans cette étude (voir description détaillée dans les chapitres suivants) en utilisant le modèle de Cole et Caraco (1998, 2001), où les flux de gaz sont fonction de la différence entre les concentrations atmosphériques et dissoutes, et d'une constante d'échange gazeux. On peut ainsi séparer les effets biologiques (concentrations dans l'eau) des effets physico-chimiques (échange gazeux, solubilités différentielles selon la température, etc.) contrôlant les flux de gaz.

Cette méthode se base sur les concentrations des gaz biogéniques du milieu qui varient selon l'activité biologique, ce qui contraste avec l'approche par chambre qui mesure

un flux combinant les processus biologiques, physiques et chimiques tout en altérant l'effet de facteurs physiques importants (e. g. le vent). Les concentrations dissoutes sont également moins variables dans le temps que les flux instantanés. Ces deux aspects combinés (séparation des processus, stabilité des mesures) facilitent l'obtention de flux moyens, par une méthode plus rapide, économique, et moins invasive.

Toutefois, cette méthode est fortement dépendante de la validité du modèle de calcul des flux choisi, car les flux obtenus par un modèle faux ou imprécis le seront tout autant que le modèle. On ne sait donc jamais avec certitude si le flux calculé correspond au « vrai » flux. Le biais issu des expérimentateurs peut également faire différer les résultats de deux équilibrations indépendantes mais théoriquement identiques.

#### *1.4.3 Comparaison et choix entre les méthodes*

Quelques études ont comparé les deux méthodes, mais n'ont pas observé de corrélation entre les flux mesurés par chambre et les concentrations dissoutes ; ils ont conclu que les chambres sont plus adéquates car elles mesurent les « vrais » flux (Søvik et Kløve 2007). Ces comparaisons se font toutefois entre les concentrations (et non les flux modélisés à partir d'elles) et les flux mesurés par chambre, et on peut difficilement défendre la validité de flux sans lien avec les concentrations issues du métabolisme bactérien contrôlant la production de GES. Il aurait été plus utile de comparer les deux méthodes pour bâtir un modèle propre aux marais filtrants, mais cette option n'a pas été retenue par les auteurs de ces études.

La méthode issue des concentrations modélisée par le modèle de Cole et Caraco (1998, 2001) a été retenue pour cette étude, pour des raisons pratiques en premier lieu (impossibilité d'effectuer le même nombre de mesures avec des chambres). Afin d'ajouter de la flexibilité et de la robustesse au modèle, les constantes d'échange gazeux (aérés vs

non aérés, avant vs arrière) ont été mesurées par chambre à l'aide du CO<sub>2</sub> (voir chapitre 4 pour les valeurs). Ces constantes ont aussi été corrigées à l'aide du nombre de Schmidt (voir Jahne et al. 1987, et chapitres 2 et 4) pour donner plus de flexibilité. Ainsi, l'approche adoptée profite des avantages des deux méthodes tout en permettant un échantillonnage exhaustif.

Il n'est pas exclu que les flux modélisés absolus présentés dans cette étude ne soient pas tout à fait exacts, mais l'objectif principal étant de comparer les flux entre les traitements soumis aux mêmes conditions, cette méthode nous semble appropriée.

### *1.5 Objectifs et hypothèses de recherche*

À la lumière de cette brève revue de la littérature consacrée au cycle de l'azote et aux flux de GES dans les marais filtrants, on constate que cette discipline a progressé durant les dernières années, mais que plusieurs aspects demeurent mal compris. À cela s'ajoutent des problèmes expérimentaux qui rendent parfois difficile la mise en évidence de l'effet de certains facteurs : systèmes/méthodes peu comparables, absence de témoins, effets antagonistes selon l'étude, manque de réplication indépendante, conclusions peu appuyées par les résultats ou tirées au sein de dispositifs expérimentaux inadéquats.

Plus précisément, peu d'études comparent les différentes espèces végétales au sein de systèmes expérimentaux comparables avec réplication, ce qui complexifie la mise en évidence de l'effet de chaque espèce. Également, l'étude des effets de l'aération artificielle en présence et en l'absence de plantes est rarement effectuée. L'isolement de l'effet des saisons n'est pas toujours rigoureux, principalement à cause d'un manque de données hivernales, attribuable à des contraintes techniques. Enfin, le manque de réplication de plusieurs dispositifs ne permet pas d'étudier les interactions entre les facteurs, ce qui est primordial pour comprendre le fonctionnement global de ces systèmes.

Ainsi, on a voulu mettre en évidence les effets individuels et combinés de l'espèce végétale, de la présence d'aération artificielle, et de la saisonnalité en utilisant des mésocosmes répliqués évoluant dans un milieu contrôlé (un compromis entre le réalisme du milieu naturel et la réplication du laboratoire (Brisson et Chazarenc sous presse)). On a voulu identifier les effets de ces facteurs sur deux aspects, soit les deux objectifs principaux de la présente étude:

**Objectif 1 :** Évaluer la contribution individuelle et synergique des différents facteurs (espèce végétale, aération artificielle, saison) sur l'épuration, les transformations et l'exportation de l'azote dans les marais filtrants.

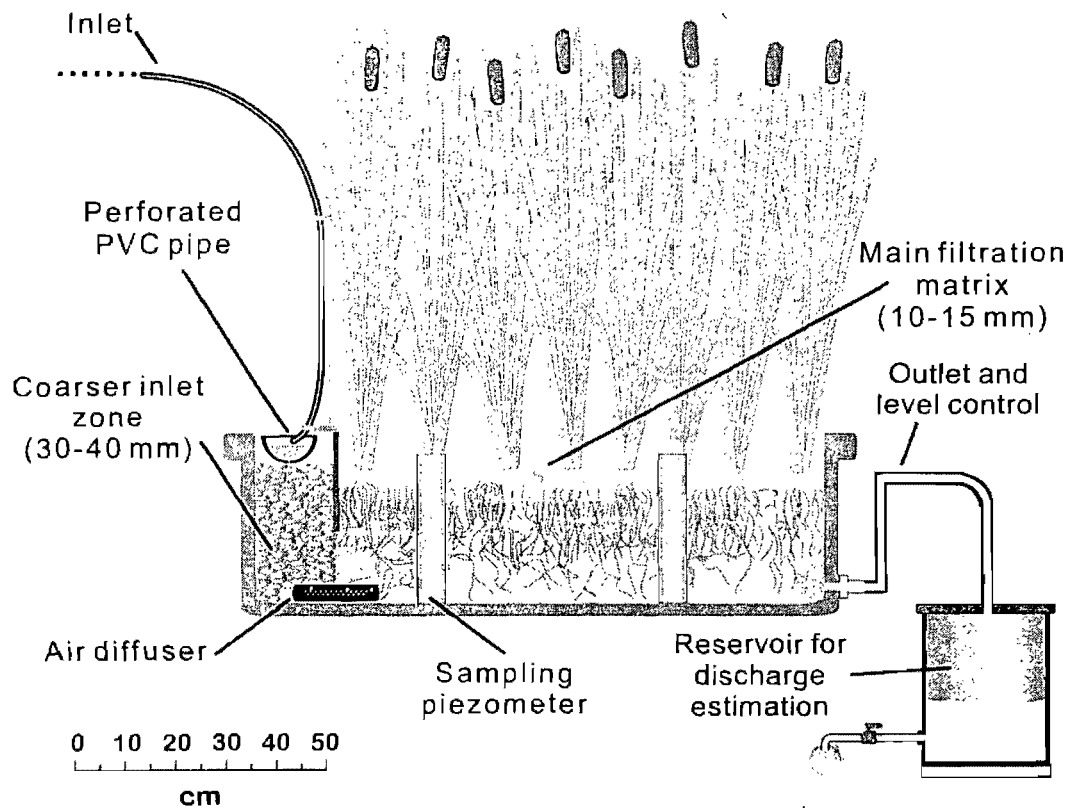
**Objectif 2 :** Évaluer la contribution individuelle et synergique des différents facteurs (espèce végétale, aération artificielle, saison) sur la production et les émissions de GES dans les marais filtrants.

On pose l'hypothèse que l'aération artificielle stimulera la nitrification et l'enlèvement d'azote total mais saturera la dénitrification. Les marais plantés devraient être plus efficaces, surtout en absence d'aération. Les espèces végétales devraient avoir un effet similaire pour l'épuration d'azote total mais plus divergent pour la spéciation de l'effluent de sortie. En se basant sur Ouellet-Plamondon (2004), *P. australis* et *T. angustifolia* devraient être relativement similaires et plus efficaces que *P. arundinacea*. On s'attend à ce que l'épuration et les différentes transformations d'azote soient moins efficaces en hiver et que l'aération ait un plus grand impact en hiver. Ainsi, on s'attend aux meilleures performances dans les marais aérés et plantés (*T. angustifolia* ou *P. australis*), durant l'été.

On pose également l'hypothèse que l'aération artificielle fera chuter les flux globaux de GES (baisse du CH<sub>4</sub>, hausse du N<sub>2</sub>O, pas d'effet sur le CO<sub>2</sub>). Les flux globaux

de GES devrait chuter dans les marais plantés (hausse du CO<sub>2</sub> via des bactéries plus actives, baisse du CH<sub>4</sub> via l'oxygénation de la rhizosphère, pas d'effet sur le N<sub>2</sub>O à cause de résultats contradictoires dans la littérature) et les émissions de GES devraient être plus élevées chez *P. australis* que chez les autres espèces végétales. On suppose une hausse des GES durant l'été, tous gaz confondus. Ainsi, on s'attend à observer les flux les plus faibles dans les marais aérés et plantés (*T. angustifolia* ou *P. arundinacea*) durant l'hiver.

Afin de tester ces hypothèses, on a mené une expérience dans une serre expérimentale de l'IRBV alimentée à l'aide d'un effluent piscicole reconstitué, de mai à décembre 2006. Le dispositif (14 mésocosmes) comprenait 3 espèces de plantes (*P. australis*, *T. angustifolia*, *P. arundinacea*) et des témoins non plantés, en plus de conditions aérées ou non ; chaque traitement était répliqué. Les analyses pour les formes d'azote (entrée et sortie des mésocosmes) et les GES (intérieur des piézomètres (voir Figure 1.4), méthode du *headspace equilibration* (voir section 1.5)) ont eu lieu du 5 juillet au 21 décembre, à toutes les 2-3 semaines. D'autres variables physico-chimiques (e. g. pH) ont été mesurées dans les piézomètres. On a estimé le prélèvement végétal d'azote et de carbone, en plus de faire deux traçages hydrauliques au KBr (début septembre, fin décembre).



**Figure 1.4 :** Coupe schématique d'un mésocosme utilisé durant l'expérimentation (©Vincent Gagnon 2008).

### 1.6 Organisation et contenu du mémoire

Ce mémoire est composé de 5 chapitres. Le présent chapitre constitue l'introduction générale du mémoire (revue de littérature, objectifs, hypothèses). Les 2<sup>ième</sup>, 3<sup>ième</sup> et 4<sup>ième</sup> chapitres constituent le corps principal du mémoire. Le chapitre 2 (sous presse dans *Ecological engineering*) rapporte les résultats obtenus lors d'une étude préliminaire (cycle de l'azote, GES) obtenus lors d'un stage estival suite au baccalauréat mais analysés lors de la maîtrise. Les chapitres 3 (en préparation pour *Water research*) et 4 (en préparation pour *Science of the Total Environment*) portent sur les principaux résultats obtenus lors de la maîtrise pour le cycle de l'azote et les GES, respectivement. Le cinquième chapitre est constitué d'une conclusion générale synthétisant les résultats obtenus et analysés lors de la

maîtrise. Deux annexes ont été ajoutés à ces 5 chapitres : les résultats bruts (annexe 1) et les résultats statistiques détaillés (annexe 2).

### *1.7 Apport de l'étudiant et des coauteurs aux articles*

Les articles suivants ont été écrit en totalité par l'étudiant à la maîtrise, et tirent leur origine de résultats d'expériences qu'il a menées. Les coauteurs ont fourni le support intellectuel, matériel et financier nécessaire pour la planification et l'exécution des expériences, et ont contribué aux relectures des articles. L'ordre des auteurs pour chaque article est représentatif de l'implication globale de chaque auteur à ces articles.



**CHAPITRE 2: Effect of artificial aeration and macrophyte species on nitrogen cycling  
and gas flux in constructed wetlands**

Gabriel Maltais-Landry, Roxane Maranger and Jacques Brisson

Manuscrit sous presse dans la revue *Ecological Engineering*

## 2.1 Abstract

Constructed wetlands (CWs) are efficient at removing excessive nutrients from wastewaters. However, this removal often results in the flux of important greenhouse gases (GHG), such as nitrous oxide ( $\text{N}_2\text{O}$ ), carbon dioxide ( $\text{CO}_2$ ) and methane ( $\text{CH}_4$ ) that could mitigate the environmental benefits of CWs. We studied the efficiency of artificial aeration and 2 different macrophyte species (*Phragmites australis*, *Typha angustifolia*) on the removal and transformations of nitrogen and GHG gas flux using CW mesocosms supplied with  $60 \text{ L m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  of wastewater. Removal of total nitrogen (TN) and dissolved organic nitrogen (DON) was generally high in all beds but resulted in a net production of oxidized nitrogen ( $\text{NO}_y$ ) in aerated CW mesocosms as compared to ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) in non-aerated units. Aerated units emitted less  $\text{N}_2\text{O}$  when planted with *P. australis* or left unplanted. Aerated beds and planted mesocosms had lower  $\text{CH}_4$  fluxes than non-aerated units and unplanted beds, respectively. Our study suggests that planted systems with artificial aeration have the overall best performances in that they lead to a reduction of GHG flux and promote the release of  $\text{NO}_y$  over  $\text{NH}_4^+$  in their effluents.

Keywords: horizontal subsurface flow constructed wetlands, nitrous oxide, methane, artificial aeration, *Typha angustifolia*, *Phragmites australis*.

## 2.2 Introduction

The use of constructed wetlands (CWs), a cost-effective, extensive, and efficient alternative to conventional wastewater treatment facilities, has been growing over the last decades in order to reduce excessive nutrient loading attributable to human activities (Vymazal 2005). Given that they are adequately placed in the landscape (Weller et al. 1998), these systems could act as primary buffers between pollution sources and natural wetlands/watercourses to protect these systems from nitrogen (N) and phosphorus (P) inputs that could result in their eutrophication.

Nitrogen retention in CWs is thought to occur via a pathway of ammonification (DON  $\rightarrow$   $\text{NH}_4^+$ ), nitrification ( $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ ) and denitrification ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$ )<sup>1</sup>. N speciation of treated effluents will vary as a function of varying efficiency of these different microbial processes, and monitoring the N speciation within the effluent of different types of CW's is essential to adequately preserve the quality of receiving waters (Tanner et al. 2002). For example, at constant removal, oxidized forms such as nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) should be favored over  $\text{NH}_4^+$  in treated effluents because of a lower toxicity and the greater facility of  $\text{NO}_3^-$  to be permanently removed via denitrification in natural ecosystems. Monitoring N speciation is thus a complimentary measure to N removal rates and is useful as it provides insights on which N cycling processes are favored or inhibited.

Coupled nitrification-denitrification is considered the main N sink in CWs (Tanner et al. 2002). Denitrification is an anaerobic heterotrophic microbial process often limited by the presence of  $\text{O}_2$  and the availability of labile carbon substrates. Nitrification is an aerobic chemoautotrophic process. Thus, oxic and anoxic microzones must be coupled in space and

---

<sup>1</sup> DON : Dissolved organic N,  $\text{NH}_4^+$  : ammonium,  $\text{NO}_2^-$  : nitrite,  $\text{NO}_3^-$  : nitrate, NO : nitric oxide,  $\text{N}_2\text{O}$  : nitrous oxide,  $\text{N}_2$  : dinitrogen

labile C abundant for optimal microbial transformation and removal of water soluble N-compounds (Spieles and Mitsch 2000, Kuschik et al. 2003). Given the variability of conditions prevailing in different CWs, reported N removal rates are variable, ranging from 20% to 93% of inputs in subsurface flow (SSF) CWs (Tanner et al. 2002, Maltais-Landry et al. 2007).

Nitrogen removal, although desirable in terms of water quality concerns, can also have adverse effects, as nitrification and denitrification (Mørkved et al. 2005) produce a powerful greenhouse gas (GHG),  $N_2O$ , with 296 times the global warming potential of carbon dioxide ( $CO_2$ ) (IPCC, 2001). Given that large emissions of  $N_2O$  could partially mitigate the beneficial role of CWs, the contribution of CWs to global GHG emissions has received increasing attention (Søvik et al. 2006, Ström et al. 2007). As for N removal and denitrification rates, reported  $N_2O$  fluxes are highly variable in CWs (Augustin et al. 2002, Mander et al. 2005). However, relating these  $N_2O$  fluxes to denitrification rates or N removal/load rates provides a useful measure of the environmental impact of N removal and enables the comparison among different systems.

High removal efficiencies of organic material in CWs also produce GHGs originating from the carbon cycle. Emissions of methane ( $CH_4$  - warming potential 23 times that of  $CO_2$ ), a GHG produced under anaerobic conditions by methanogenic bacteria, are highly variable in CWs (Tai et al. 2002, Johansson et al. 2004). Methane production is regulated by numerous factors, including oxygenation, water table, plant species and temperature (Fey et al. 1999, Grünfeld and Brix 1999, Wild et al., 2001).  $CO_2$  is also produced in CWs by the respiration of plants and bacteria and consumed by photosynthesis.  $CO_2$  fluxes have only been monitored in a few studies (e.g. Teiter and Mander 2005, Liikanen et al. 2006).

Several factors can influence the efficiency of N cycling and GHG production in CWs, including the introduction of oxygen to the rhizosphere associated with presence of macrophytes and/or artificial aeration. Plants may enhance N removal via oxygen delivery through their roots, favoring nitrification (Brix 1997). Because these systems are highly enriched in nutrients, rhizosphere oxygenation and N removal can be improved with the addition of aeration (Davies and Bart 1990, Cottingham et al. 1999, Higgins 2003, Ouellet-Plamondon et al. 2006). However, excessive oxygen could have adverse effects in terms of GHG production and result in N<sub>2</sub>O accumulation via incomplete denitrification. To our knowledge the effect of artificial aeration on N<sub>2</sub>O production has never been tested. The oxygen delivered to the rhizosphere by macrophytes may also influence N<sub>2</sub>O production, but results vary widely in the literature where in some cases fluxes are higher (Rückauf et al. 2004, Ström et al. 2007) and in other fluxes are lower fluxes (Wild et al. 2001) in planted CWs compared to unplanted plots. Other gas fluxes may also be impacted by oxygenation and plant growth. For example, methanogenesis requires anaerobic conditions, therefore macrophytes and artificial aeration could reduce CH<sub>4</sub> fluxes. The presence of macrophytes may also contribute to lower CO<sub>2</sub> fluxes via carbon sequestration through photosynthesis. Finally, the effects of plants may be subject to diurnal and seasonal variations as photosynthesis and gas transport to the rhizosphere are both active processes dependent on plant metabolism. These variations could affect N cycling and GHG production and are thus important to monitor.

Although the presence of macrophytes, the plant species selected and artificial aeration may have a profound effect on N cycling and GHG production, they are seldom monitored in the controlled conditions required to isolate their individual and combined effects on wastewater treatment by CWs. The objective of this study was to look at the role of two species of macrophytes (*Phragmites australis* and *Typha angustifolia*) and artificial

aeration in isolation and in combination on N cycling, N speciation and GHG production using a mesocosm approach in a one-day diurnal (24 hour) survey.

## 2.3 Materials and methods

### 2.3.1 Experimental system

We used twelve HSSFCWs mesocosms (length: 1.25 m, width: 0.8 m, height: 0.3 m) located in a controlled greenhouse environment, at the Montreal Botanical Gardens, Montreal, Québec, Canada (Ouellet-Plamondon et al. 2006, Maltais-Landry et al. 2007, Chazarenc et al. 2007). Details of the mesocosm design are illustrated in Figure 1.4. Two 1500 L refrigerated bulk tanks were used to store a reconstituted effluent at 4°C (Total N = 21.7 mg/L, DON = 15.8 mg/L,  $\text{NH}_4^+$  = 0.18 mg/L,  $\text{NO}_y$  = 0.23 mg/L, DOC = 10.86 mg/L)\*, while peristaltic pumps distributed the effluent at  $60 \text{ L m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  at the inlet of each mesocosm from 6 AM until 6 PM. The pumping design included an equilibration time in non-refrigerated reservoirs that allowed the inlet water to reach a temperature of  $\sim 10^\circ\text{C}$  when delivered to the different units. At the outflow of each unit, a graduated bucket was installed to collect and measure the quantity of treated effluent being discharged, the latter varying between  $44 \text{ L m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  in some *Typha* wetlands and  $58 \text{ L m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  in some unplanted units during this study. Mesocosms were filled with river gravel ( $\text{Ø}$  10-15 mm, porosity = 0.4), with a short section at the inlet (length: 0.1 m, width: 0.8 m, height: 0.3 m) filled with large gravel ( $\text{Ø}$  30-40 mm, porosity: 0.35) to facilitate inlet water distribution. Inlet water distribution was achieved by using a perforated PVC pipe that ran along the whole width of the coarser inlet zone of the mesocosms ( $0.08 \text{ m}^2$ ) to allow for a homogeneous lateral water distribution. Two piezometers were also installed at the extremities of the mesocosms,

---

\*  $\text{NO}_y$  stands for the sum of  $\text{NO}_3^-$  and  $\text{NO}_2^-$  in this document. DOC = Dissolved organic carbon.

approximately 30 cm from the front and back edges, to allow for water sampling in the front and in the back of the mesocosms. The water table was kept 4 cm below the substrate surface.

Of the 12 experimental mesocosms, six were artificially aerated and six were not. Aeration was achieved with a diaphragm air pump (General hydroponics Inc., Model AP-0025B) that diffused air continuously ( $2 \pm 1 \text{ L min}^{-1}$ ) near the bottom of the inlet in a horizontal, 20 cm diameter circular tube. The aerated section of the mesocosms was entirely located before the first piezometer and consisted of roughly a quarter of the mesocosms' surface ( $\sim 0.24 \text{ m}^2$ ). For both sets of 6 mesocosms (aerated vs. non-aerated), two were planted with *Phragmites australis*, two were planted with *Typha angustifolia*, and two were left unplanted. The wetlands were constructed and the vegetation was planted in May 2002 (Ouellet-Plamondon et al. 2006), thus plants were fully mature (fourth growing season) during this study. Mesocosms were supplied with the effluent initially at a rate of  $30 \text{ L m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  beginning July 1<sup>st</sup> 2005 and later, at a rate of  $60 \text{ L m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  beginning August 16<sup>th</sup> 2005, roughly two weeks before the diurnal experiment took place (August 30<sup>th</sup> 2005). The latter rate was found to be optimal for N removal in this experimental setup (Maltais-Landry et al. 2007) and resulted in a theoretical residence time of approximately 1.7 days (Chazarenc et al. 2007).

Various types of wastewater can be treated by CWs, where domestic is the most common. In this study, we focused on the treatment of a fish farm effluent. For our experiments, concentrated effluent was reconstituted with decanted sludge from a freshwater trout farm located in St-Damien-de-Buckland (Québec, Canada). The composition of the effluent we chose to treat was closely related to that of average municipal wastewater as a result of using the concentrated interstitial waters of the highly polluted sludge (Comeau et al. 2001).

### *2.3.2 Gas sampling methods*

Samples were collected for the measurements of several biogenic gases and the partial pressure was determined using headspace equilibration at ambient temperature (Richey et al. 1988). A large BOD bottle (1.1 L) was gently filled with water from the piezometers located at the extremities of the mesocosms at the front and at the back of the units (Figure 1.4). BOD bottles were sealed with a gas tight cap, 120 ml of water was removed and an equivalent volume of ambient air was introduced to create a headspace within the bottles. The final volumes in the bottle were 120 ml of ambient air and 0.98 L of water. Bottles were vigorously shaken for two minutes, allowing for full equilibration of the air and water phases (Cole and Caraco 1998). Gas samples (9 ml) were taken from the headspace and immediately transferred to gas tight pre-evacuated vials with a thick butyl stopper and an aluminum ring. Equilibrations were carried out in water collected from both the front and the back piezometers, and each equilibration provided duplicate subsamples of headspace gas. We were interested in identifying a diurnal pattern in gas flux, hence samples were collected at noon (August 30<sup>th</sup>, 2005), 6 PM, midnight, 6 AM and noon (August 31<sup>st</sup>, 2005). Ambient air concentrations were taken at each sampling time and were used to correct for the introduction of ambient air inside the bottles. The final partial pressures of the different gases were also corrected for molecular diffusion and gas movement in water and in the air, as detailed by Cole and Caraco (1998).

Samples were analyzed by gas chromatography. For N<sub>2</sub>O measurements, we used an ECD detector on a Tracor model 540 GC with a Tekmar 7050 autosampler and a Poropak Q (80/100) column to separate gases, and N<sub>2</sub> as the carrier gas (35 mL min<sup>-1</sup>). A TCD detector measured CO<sub>2</sub> simultaneously within the vials. Methane samples were manually injected into a 2-ml sample loop for analysis with a Shimadzu GC-8A gas



chromatograph equipped with a flame ionization detector and a Porapak Q column with He carrier gas at a pressure of 12 kPa.

We used the model of Cole and Caraco (1998) to calculate gas fluxes. This model supposes that gas fluxes depend mainly on two factors: the gas concentration differential between the water and the air, and the gas exchange coefficient ( $k$ ) also known as the piston velocity for gas exchange. Fluxes of a given gas between water within the mesocosms and the atmosphere were estimated using the following equation:

$$f = k * Kh * (pGw - pGa) \quad (1)$$

where  $f$  is the flux of a given gas (in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ),  $k$  is the piston velocity for gas exchange (in  $\text{m d}^{-1}$ ),  $Kh$  is Henry's constant,  $pGw$  is the partial pressure (in micro-atmospheres) of a given gas in the water, and  $pGa$  is the partial pressure (in micro-atmospheres) of a given gas in the air (Cole and Caraco 2001). Henry's constant was calculated using the following equation:

$$Kh = Kh_{std} * e^{(-a * (\frac{1}{T} - \frac{1}{298.15}))} \quad (2)$$

where  $Kh$  is Henry's constant for a given gas in experimental conditions,  $Kh_{std}$  is  $Kh$  at 298.15 °C and 101.3 kPa for a given gas,  $T$  is the temperature (in Kelvin), and  $a$  is a constant. We used values of  $Kh_{std}$  and  $a$  of 0.025 and 2700 for  $\text{N}_2\text{O}$ , 0.035 and 2400 for  $\text{CO}_2$ , 0.0014 and 1700 for  $\text{CH}_4$  (CRC Handbook of Chemistry and Physics 1995).

Piston velocity, one of the main drivers of gas flux according to this model, varies positively with temperature and turbulence. In the case of temperature-driven changes of  $k$ , its variation can be predicted using the Schmidt number ratio approach (Jahne et al. 1987).

The Schmidt number varies according to the nature of the gas and negatively with temperature, as detailed by Jahne et al. (1987). Indeed, the calculation of the Schmidt number is based on three parameters each multiplied by temperature, its square or its cube, that represents the temperature-dependence of  $k$ . Once  $k$  is known for any one gas and temperature,  $k$  can be calculated for any other gas and temperature, using this formula (Jahne et al. 1987):

$$\frac{k_{gas\ 1}}{k_{gas\ 2}} = \left( \frac{Sc_{gas\ 1}}{Sc_{gas\ 2}} \right)^{-0.67} \quad (3)$$

where  $k_{gas1}$ ,  $k_{gas2}$  are piston velocities for two given gases,  $Sc_{gas1}$ ,  $Sc_{gas2}$  are the respective Schmidt numbers for the same gases. For comparison purposes, piston velocities of a given system are usually expressed for a gas with a Schmidt number of 600 ( $k_{600}$ ) which corresponds to CO<sub>2</sub> at 20°C.

In addition to temperature, piston velocity is known to be dependent on turbulence, mostly wind-driven turbulence (Cole and Carco 2001). In our case, given that there was no effect of wind in our greenhouse experiments, we used a value of 0.3 for  $k_{600}$  and computed  $k$  values for each gas and temperature based on equation 3 (Cole and Caraco 1998).

### 2.3.3 Water sampling methods

Water samples for chemical analyses were integrated water samples collected after the 12 hours of inlet distribution to the wetland mesocosm, i.e. at 6 PM. Samples for total N (TN) were analyzed directly and samples for DOC, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>+NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (NO<sub>y</sub> for the rest of the document), NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, and total dissolved N (TDN) were pre-filtered (Nalgene SFCA 0.45µm). All filtrations were made immediately after sampling. DOC was measured by infrared gas analysis after sample acidification and He sparging followed by Pt-catalyzed oxidation at

700 °C on a Shimadzu TOC-5000. NO<sub>y</sub> and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> were measured by automated flow injection analysis (Lachat methods 10-107-04-1-B and 10-107-06-1-F), and TN and TDN were measured as NO<sub>3</sub><sup>-</sup> after alkaline persulfate digestion of 50-mL samples at 120 °C (D'Elia et al. 1977). DON was determined as the difference between TDN and the dissolved inorganic forms. Particulate N (PN) was calculated as the difference between TN and TDN. Other physical and chemical variables (dissolved oxygen (DO) concentration and redox potentials) were measured using a YSI multi-probe (YSI model 556) in the piezometers at each gas sampling time.

#### 2.3.4 Mass balance calculations

Total daily pollutant mass removal (in g m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>) was calculated using the following equation:

$$M = (Id * Ic) - (Ed * Ec) \quad (4)$$

where  $M$  = Mass removed (g m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>),  $Id$  = Inlet discharge rate (L m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>),  $Ic$  = Inlet concentration (g L<sup>-1</sup>),  $Ed$  = Effluent discharge rate (L m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>),  $Ec$  = Effluent concentration (g L<sup>-1</sup>). Inlet/effluent discharge rates were obtained using our discharge measurements while inlet/effluent concentrations were obtained via the chemical analyses described in section 2.3. The amount of TN removed (TN<sub>r</sub>) was used to estimate N-N<sub>2</sub>O:TN<sub>r</sub> ratios, which can be used as surrogates for N<sub>2</sub>O:N<sub>2</sub> ratios (Johansson et al. 2003).

### 2.3.5. Statistical analyses

We used two-way ANOVAs followed by tests of comparison of means (Tukey HSD) to test the effect of artificial aeration and the presence of macrophytes on N removal, nutrient transformations, and gas production. Most of the variables met normality assumptions and had homogeneous variance. We used a non-parametric ranking method when necessary. In addition to ANOVAs, we calculated Spearman rank correlations to determine relationships between gas fluxes, nutrient removal and physical and chemical variables. All statistical analyses were performed using SPSS version 15.0 software (SPSS, Inc., Chicago), and were considered significant at the 0.05 level.

## 2.4 Results

### 2.4.1 Nitrogen transformations and nitrous oxide gas fluxes

All treatments were efficient in removing a high proportion of their TN load (load:  $1.30 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ; removal range:  $0.97\text{-}1.07 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ), except for unplanted non-aerated units (Figure 2.1a). The dominant form removed was DON, and its transformation resulted in net production of  $\text{N-NH}_4^+$  and/or  $\text{N-NO}_y$  in all beds (Figure 2.1b, c).  $\text{N-NH}_4^+$  production was lower in aerated and planted units (Table II), and negatively correlated with redox potential and DO concentration (Table III).  $\text{N-NO}_y$  production was positively correlated with redox potential (Table III) and generally higher in aerated planted units (Figure 2.1c), but the latter observation was not statistically significant.

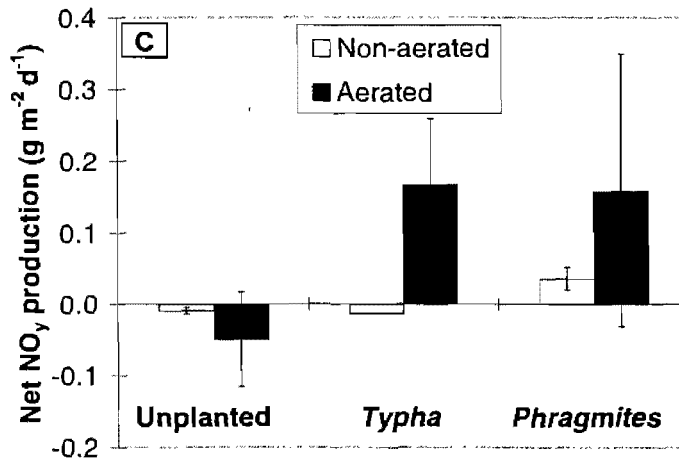
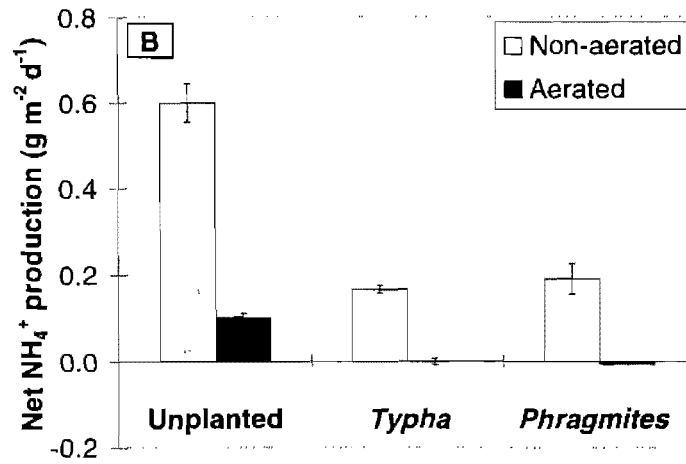
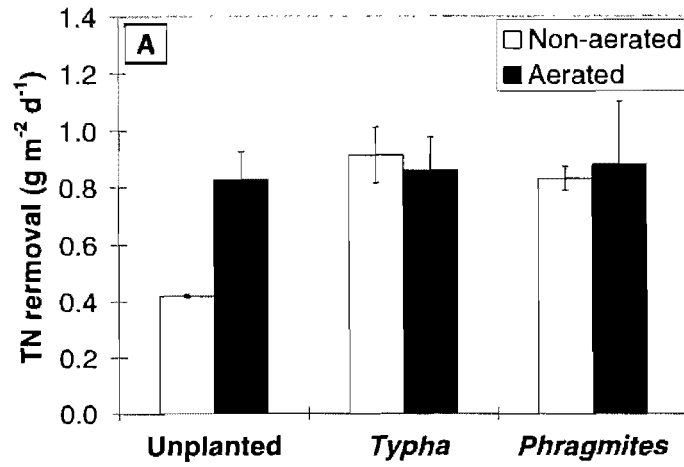
**Table II:** ANOVA statistics among treatments and variables, with degrees of freedom (df) and results from the Tukey HSD tests. Only statistically significant results ( $p < 0.05$ ) are shown.

Variable	Factor	F-value	df	p-value	Tukey HSD
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> production	aeration	72.1	1	< 0.001	Aerated < Non-aerated
	macrophytes	8.2	2	< 0.05	<i>Typha</i> = <i>Phragmites</i> < Unplanted
DON proportion	aeration	10.3	1	< 0.05	Aerated > Non-aerated
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> proportion	aeration	64.8	1	< 0.001	Aerated < Non-aerated
N-NO <sub>y</sub> proportion	aeration	19.8	1	< 0.01	Aerated > Non-aerated
N-N <sub>2</sub> O	aeration	14.2	1	< 0.05	Aerated < Non-aerated in unplanted, <i>Phragmites</i> Aerated > Non-aerated in <i>Typha</i>
	macrophytes	7.7	2	< 0.05	<i>Typha</i> < <i>Phragmites</i> = Unplanted in non-aerated <i>Typha</i> = <i>Phragmites</i> = Unplanted in aerated
	interaction	17.9	2	< 0.01	
N-N <sub>2</sub> O:TNr	aeration	6.5	1	< 0.05	Aerated < Non-aerated for unplanted, <i>Phragmites</i> Aerated > Non-aerated for <i>Typha</i>
	macrophytes	5.8	2	< 0.05	<i>Typha</i> ≤ <i>Phragmites</i> ≤ Unplanted in non-aerated <i>Typha</i> = <i>Phragmites</i> = Unplanted in aerated
	interaction	5.3	2	< 0.05	
C-CO <sub>2</sub> fluxes	aeration	61.0	1	< 0.01	Aerated < Non-aerated except for unplanted
	macrophytes	375.8	2	< 0.001	<i>Typha</i> = <i>Phragmites</i> > Unplanted
	interaction	71.1	2	< 0.001	
C-CH <sub>4</sub> fluxes	aeration	1525.8	1	< 0.001	Aerated > Non-aerated
	macrophytes	129.1	2	< 0.001	<i>Phragmites</i> < <i>Typha</i> < Unplanted in non-aerated <i>Phragmites</i> = <i>Typha</i> < Unplanted in aerated
	interaction	15.9	2	< 0.01	

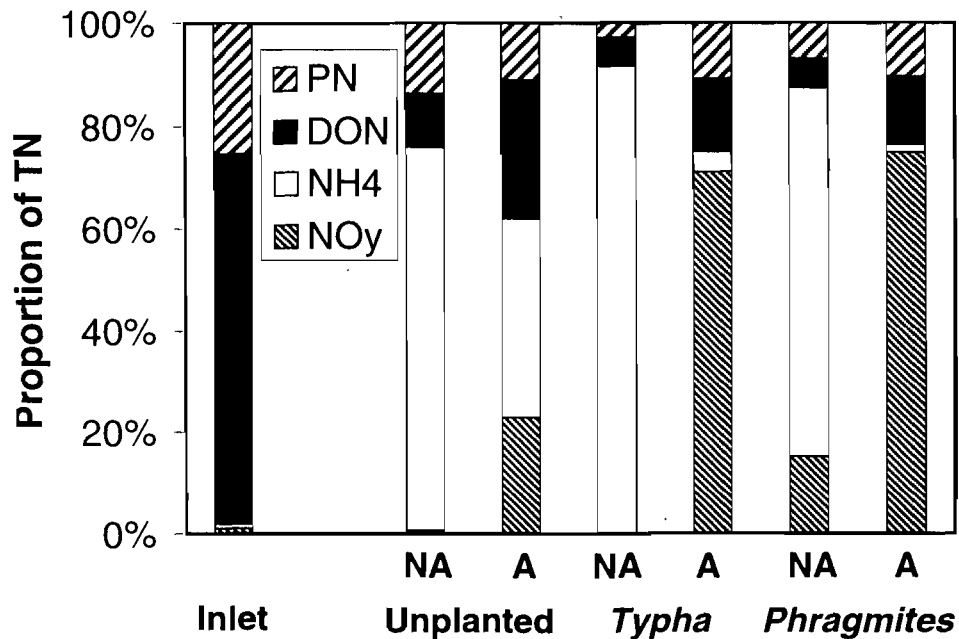
**Table III:** Spearman rank correlations among treatments and variables. Note: TN/DON removal, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/NO<sub>y</sub> production. Significance: \* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ , \*\*\* =  $p < 0.001$ .

	REDOX	DO	N <sub>2</sub> O	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>	NO <sub>y</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	TN	DON
REDOX	1	<b>0.63 *</b>	-0.29	0.04	<b>-0.89 ***</b>	<b>0.74 **</b>	<b>-0.87 ***</b>	0.27	-0.51
DO		1	-0.22	0.01	<b>-0.73 **</b>	0.41	<b>-0.73 **</b>	0.48	-0.24
N <sub>2</sub> O			1	-0.24	0.07	0.19	0.32	-0.47	0.04
CO <sub>2</sub>				1	-0.15	-0.03	-0.07	0.51	<b>0.59 *</b>
CH <sub>4</sub>					1	<b>-0.79 **</b>	<b>0.92 ***</b>	-0.32	0.45
NO <sub>y</sub>						1	<b>-0.58 *</b>	-0.19	-0.56
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>							1	-0.50	0.54
TN								1	0.14
DON									1

Overall nitrogen removal from fish farm effluent resulted in a lower proportion of DON and PN after treatment (Figure 2.2). Aerated mesocosms had more DON and N-NO<sub>y</sub>, and less N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> in their treated effluents (Figure 2.2; Table II). Planted mesocosms seemed to release more N-NO<sub>y</sub>, and less N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and DON in their effluent (Figure 2.2), but the differences were not significant compared to unplanted treatments.



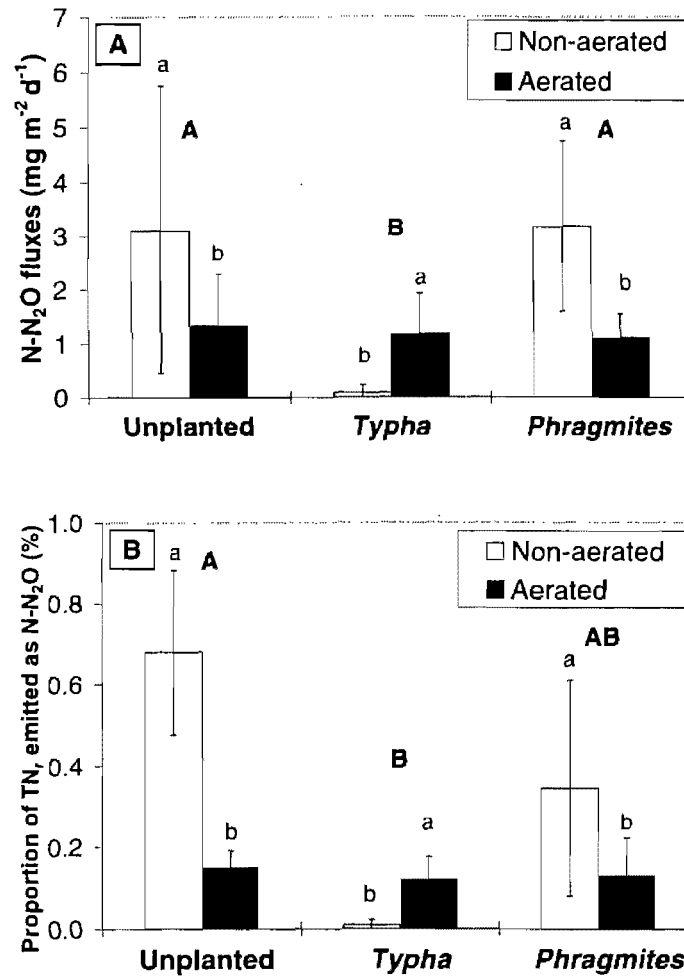
**Figure 2.1:** Average A) TN removal rates, B) NH<sub>4</sub><sup>+</sup> production rates and C) NO<sub>y</sub> production rates among various wetland treatments. Note that negative production means a net removal. Error bar are standard deviations (SD) of the mean.



**Figure 2.2:** Proportion of TN (means, on a percentage basis) as PN, DON,  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_y$  among wetland treatments. In each macrophytes treatment, A = aerated and NA = non-aerated.

These nitrogen transformations resulted in highly variable  $\text{N}_2\text{O}$  fluxes (-0.081 to 28.21 mg  $\text{N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ; Figure 2.3a). Our measured fluxes were within the range and consistent with the variability reported in other studies (Søvik et al. 2006), indicating that our greenhouse experiment yielded results that are coherent with those reported for full-scale CWs. We found no consistent daily pattern in  $\text{N}_2\text{O}$  emissions (data not shown), nor were  $\text{N}_2\text{O}$  fluxes correlated with any physical or chemical variable (Table III). Nitrous oxide fluxes were similar in all aerated mesocosms, and lower in non-aerated *T. angustifolia* units compared to non-aerated unplanted and *P. australis* units (Figure 2.3a; Table II).  $\text{N-N}_2\text{O}:\text{TN}_r$  ratios also differed significantly among treatments, with lower ratios in aerated and planted units (Figure 2.3b; Table II). Only non-aerated *T. angustifolia* treatments were significantly lower than unplanted (Figure 2.4b). Interestingly, artificial aeration resulted in an increase in  $\text{N-N}_2\text{O}$  fluxes and in  $\text{N-N}_2\text{O}:\text{TN}_r$  ratios in the *T.*

*angustifolia* treatment whereas the impact of aeration on the other treatments (*P. australis*, unplanted) was the opposite (Figure 2.3a, b).



**Figure 2.3:** Average A) N-N<sub>2</sub>O fluxes and B) proportion of TN<sub>r</sub> emitted as N-N<sub>2</sub>O among wetland treatments. Capital letters denote significant differences among macrophyte treatments using a Tukey test regardless the presence or absence of aeration. Lower case letters denote a significant difference between aerated and non-aerated conditions within a specific planted or unplanted treatment. Error bars are SD of the mean.

#### 2.4.2 Carbon dioxide and methane gas fluxes

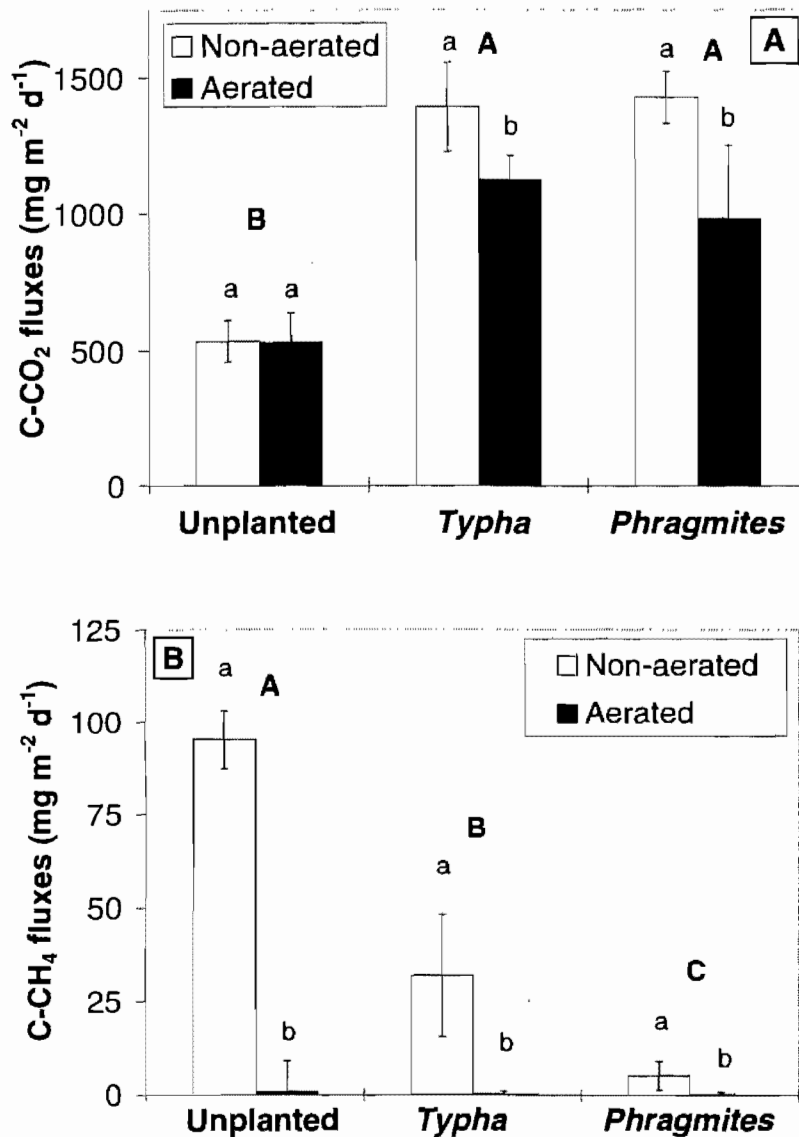
Carbon dioxide fluxes did not exhibit a clear daily pattern (data not shown), but they varied markedly among treatments, ranging from 0.073 to 1.77 g C-CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> (Figure 2.4a). These CO<sub>2</sub> fluxes were higher in planted and non-aerated units (Table II).



Methane fluxes were also variable and did not exhibit a daily pattern (range: 0.050 to 110 mg CH<sub>4</sub> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>) (Figure 2.4b). CH<sub>4</sub> fluxes were statistically lower in aerated and planted units (Table II), although *T. angustifolia* had higher emissions than *P. australis* in non-aerated treatments (Figure 2.4b). These variations in CH<sub>4</sub> fluxes were most likely a result of changes in both redox potential and DO concentration by plants and artificial aeration rather than differences in DOC removal, which was high (over 70%) and relatively constant among all treatments, ranging from 0.464 to 0.511 g C m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>. As a result, CH<sub>4</sub> fluxes were negatively correlated to redox potential and DO concentration (Table III).

## 2.5 Discussion

This study is the first to our knowledge to report the effects of two macrophyte species (*Phragmites australis*, *Typha angustifolia*) and artificial aeration on nitrogen transformations and nitrous oxide production in constructed wetlands. Both artificial aeration and macrophytes, via their roots, introduce oxygen to the rhizosphere, but to different degrees. Since nitrogen transformations are dependent on oxygen dynamics, it is important to evaluate the contribution of both plants and aeration, individually and in combination. This allows for a more comprehensive understanding of the factors controlling nitrogen removal, the resultant N forms in treated effluent and greenhouse gas production.



**Figure 2.4:** Average A) C-CO<sub>2</sub> fluxes and B) C-CH<sub>4</sub> fluxes among wetland treatments. Capital letters denote significant differences among macrophyte treatments using a Tukey test regardless the presence or absence of aeration. Lower case letters denote a significant difference between aerated and non-aerated conditions within a specific planted or unplanted treatment. Error bars are SD of the mean.

With the exception of unplanted non-aerated units, all treatments removed nitrogen efficiently, consistent with previous SSF studies (Cottingham et al. 1999, Ouellet-Plamondon et al. 2006). This highly efficient nitrogen removal reflects a tight coupling between nitrification and denitrification processes in all treatments, but the differential

accumulation of nitrogen species in the treated effluent reflects a partial inhibition of either one of those processes, likely as a function of micro-scale oxygen dynamics within the system. Aerated planted treatments had the highest redox potentials and this may have slowed or partially inhibited denitrification given that we observed an accumulation of  $\text{NO}_y$  in these treated effluents. This partial inhibition of denitrification could be a possible drawback of artificial aeration if excessively high oxygen concentrations are responsible for a combined reduction of denitrification and N removal rates, but we didn't observe a decrease in removal during this study. The lower redox potentials and the observed accumulation of  $\text{NH}_4^+$  in non-aerated planted units suggest that nitrification rates were reduced in the absence of artificial aeration. Releasing  $\text{NO}_y$  to the environment is favored over releasing  $\text{NH}_4^+$ , because oxidized nitrogen forms are less toxic and closer to permanent removal via denitrification. The effects of artificial aeration in promoting N removal and  $\text{NO}_y$  accumulation have been previously reported (Cottingham et al. 1999, Bezbaruah and Zhang 2003). However, these studies lacked replicated treatments testing the effects of artificial aeration with and without macrophytes, and could not determine the relative contribution of each factor in delivering oxygen to the rhizosphere. Our experimental results suggest that the major factor affecting oxygen dynamics was artificial aeration rather than macrophytes, and that redox potential and DO concentration had a greater influence on the speciation of nitrogen found in the treated effluent than on TN removal rates.

Differences in nitrogen transformations and oxygen dynamics among mesocosms were partially reflected in changes in  $\text{N}_2\text{O}$  gas fluxes. Fluxes were similar in aerated treatments and varied greatly in non-aerated treatment, and this variability is consistent among other studies reported in literature (Fey et al. 1999, Mander et al. 2003, Søvik et al. 2006). The high variability of  $\text{N}_2\text{O}$  flux is probably due to a complex array of mechanisms

controlling its dynamics and not a function of sampling method. Correlations between N<sub>2</sub>O fluxes and physical and chemical variables or nutrient content reported in the literature are often weak or non-existent (Fey et al. 1999, Gui et al. 2000, Tai et al. 2002, Johansson et al. 2003, Mander et al. 2003, Stadmark and Leonardson 2005). We were unable to find a consistent pattern in diurnal variation of N<sub>2</sub>O fluxes partly because of the high within treatment variability. This conclusion is similar to the only other study (Tai et al. 2002) that tested for diurnal patterns in N<sub>2</sub>O fluxes in CWs, since most studies focus on seasonal or annual variation.

The difference observed between the non-aerated units planted with *T. angustifolia*, with very low fluxes, compared to the relatively higher emissions of the non-aerated *P. australis* is undoubtedly interesting, although it should be interpreted with caution. Our experiment took place over a 24 hour period only. Ström et al. (2007) also observed lower fluxes in CWs planted with *Typha* spp as compared with those planted with *P. australis*, but the difference between the two treatments was much smaller than in our experiment. This could be attributed to a different type of wetland (surface-flow CWs), since flow type may have an influence on GHG fluxes (Søvik et al. 2006), but this remains to be tested. Although a more thorough investigation of the relative importance of these two species in GHG production is required, the consistent pattern of different N<sub>2</sub>O fluxes between the two species confirms that the choice of a plant species in CWs should not be taken lightly. Moreover, since *Phragmites australis* is the most common plant used in constructed wetlands (Tanner 1996), artificial aeration could be used to lower N<sub>2</sub>O emissions in these CWs, as the combined treatment results in lower fluxes.

Relating N<sub>2</sub>O fluxes to N<sub>2</sub> allows for a more holistic evaluation of nitrogen removal efficiency as compared to considering N<sub>2</sub>O fluxes alone. Because N<sub>2</sub>O and N<sub>2</sub> fluxes are rarely reported simultaneously in CWs, the use of surrogate ratios (e.g. N<sub>2</sub>O: TN<sub>r</sub>) provides

a good alternative to compare different types of CWs and assess their environmental efficiency in terms of greenhouse gas emissions. The  $N-N_2O: TN_r$  ratios in our study were lower in aerated and planted units, except for *T. angustifolia* in which non-aerated units were more efficient than aerated ones. In experiments with microcosms containing fen soils, Rückauf et al. (2004) found that *P. australis* had higher  $N_2O:N_2$  ratios than unplanted controls. Wild et al. (2001) also found that constructed *Typha* spp wetlands had lower ratios of  $N_2O$  to TN removal. Although these results were reported in two different experiments, they seem to be consistent with our observation of a greater efficiency in N processing of *T. angustifolia* compared to both *P. australis* and unplanted treatments. If we compare our  $N_2O: TN_r$  ratios to the  $N_2O: N_2$  ratios reported for natural systems, which vary from 0.1% to 6% (Seitzinger et al. 2000), our values are within the lower range. A lower  $N_2O: N_2$  ratio would suggest that N removal in a system is highly efficient as it is a result of complete denitrification. The removal efficiency we observed in this study may be a function of the higher carbon availability (Smith and Tiedje 1979) found in CWs. Our study and those of others suggests that constructed wetlands are not only beneficial in that they are efficient in removing TN, but they do so with relatively low  $N_2O$  emissions.

In term of C gases,  $CO_2$  fluxes were affected by macrophytes with higher fluxes in aerated planted units as compared with unplanted treatments. Higher emissions in planted mesocosms were expected because macrophytes sustain a larger heterotrophic bacterial biomass (Gagnon et al. 2007). Artificial aeration and macrophytes, mainly via their capability to increase redox potentials and DO concentration, had a strong influence on methane fluxes. Indeed, this is the first study to our knowledge to measure the effects of artificial aeration on the production of methane gas in CWs. Given that methanogenesis is inhibited in the presence of oxygen (Grünfeld and Brix 1999, Neubauer et al. 2005),  $CH_4$  fluxes were lower in aerated units and planted treatments. Although the fluxes we observed

in this study were low, they were within the range of those previously reported in the literature (Tai et al. 2002, Wild et al. 2001, Johansson et al. 2004). One explanation would be that our mesocosms are surprisingly resistant to methanogenesis because the gravel media is less favorable to the colonization by methanogens than typical wetland soils. Also, an unmeasured metabolic pathway (iron or sulfate reduction) occurring in our systems may have reduced the rate of methanogenesis, at least while the plants were viable (Neubauer et al. 2005).

## *2.6 Conclusions*

Artificial aeration and the presence and species of macrophytes all had a significant impact on oxygen dynamics in CWs mesocosms. This strongly influenced N removal, N transformations, and greenhouse gas fluxes ( $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$ , and  $\text{CH}_4$ ). Macrophytes generally enhanced nitrogen removal and processing while reducing GHG fluxes compared to unplanted CWs. Artificial aeration also stimulated N removal and processing while lowering GHG fluxes, and the best results were obtained through the combination of macrophytes and artificial aeration, highlighting that macrophytes are more than oxygen pumps. Artificial aeration could thus be used in addition to macrophytes to yield better results in order to further reduce the impacts of CWs treating wastewater on both the surrounding aquatic ecosystems (via species of N found in treated effluents) and the atmosphere (via a reduction of GHG emissions). Further investigation is required to better understand the impact of implementing artificial aeration in CWs. The benefits of higher nitrification rates through artificial aeration should not result in lower denitrification rates or higher  $\text{N}_2\text{O}$  fluxes as a function of excessive oxygenation. Given the additional expense that artificial aeration may impose in wastewater treatment, it will also be important to

identify the most appropriate spatial location of the aeration units (near the inlet or throughout the wetland) and identify the optimal use of aeration at various time scales from daily (constant or pulse aeration) to seasonal (summer versus winter). In all cases, to best evaluate the impact of CWs at various scales, future studies should consider the change in N speciation of the effluent and the production of GHG from these systems simultaneously.

### *2.7 Acknowledgements*

Special thanks go to C. Blanchet, L. Tall and C. Radix for sampling assistance, M. Bouffard for nutrient analyses, F. Chazarenc for mesocosm maintenance, V. Gagnon for mesocosm maintenance and help with Figure 1.4, P. Gröffman and D. Lewis for help with gas analyses, J. Cole and Y. Prairie for discussions and to two anonymous reviewers for comments. This research was funded by the Natural Sciences and Engineering Research Council (NSERC) of Canada student scholarship to GML, an NSERC Discovery grant to RM and a Strategic grant to JB. This study is a contribution to the *Groupe de recherche interuniversitaire en limnologie* (GRIL).

**CHAPITRE 3: Nitrogen transformations and retention in planted and artificially aerated constructed wetlands**

Gabriel Maltais-Landry, Roxane Maranger, Jacques Brisson, and Florent Chazarenc

Manuscrit en préparation pour la revue *Water research*



### 3.1 Abstract

Nitrogen (N) processing in constructed wetlands (CWs) is often variable, and the contribution to N retention by various pathways (nitrification/denitrification, plant uptake, sediment storage) remains unclear. We studied the seasonal variation of the effects of artificial aeration and three different macrophyte species (*Phragmites australis*, *Typha angustifolia*, *Phalaris arundinacea*) on N processing (removal rates, transformations, export) using experimental CW mesocosms. Removal of total nitrogen (TN) was higher in summer and in planted and aerated units, with the highest mean removal in units planted with *T. angustifolia*. Export of ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), a proxy for nitrification limitation, was higher in winter, and in unplanted and non-aerated units. Planted and aerated units had the highest export of oxidized nitrogen ( $\text{NO}_y$ ), a proxy for reduced denitrification, during fall and winter. Redox potential, evapotranspiration (ETP) rates and hydraulic retention times (HRT) were all predictors of TN,  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_y$  export, and significantly affected by plants. Denitrification was the main N sink in most treatments accounting for 47% to 62% of TN removal, while sediment storage was dominant in unplanted non-aerated units and units planted with *P. arundinacea*. Plant uptake accounted for less than 20% of the removal. Uncertainties about the long-term fate of the N stored in sediments suggest that the fraction attributed to denitrification losses could be underestimated in this study.

Keywords: Horizontal subsurface flow constructed wetlands, nitrogen, nitrification, denitrification, macrophytes species, artificial aeration

### 3.2 Introduction

Excessive nitrogen (N) and phosphorus loading to natural watercourses due to urbanization and intensive farming highlight the need to protect these ecosystems from eutrophication by reducing nutrient inputs, restoring natural wetlands and riparian habitats, and using alternative wastewater treatment facilities. Among these alternatives, the use of constructed wetlands (CWs), a cost-effective, extensive, and efficient wastewater treatment facility, has been growing over the last decades (Vymazal 2005). Given that they are adequately placed in the landscape (Weller et al. 1998), these systems could act as primary buffers between pollution sources (mainly point-source), natural riparian ecosystems, and adjacent aquatic ecosystems. However, N removal rates reported for horizontal subsurface flow constructed wetlands (HSSFCWs) are variable, ranging from high removals of over 90% (Søvik and Mørkved 2008) to removals as low as 11% (Kuschik et al. 2003), illustrating the need to better understand what controls N removal to obtain more reliable treatment performances.

Nitrogen removal in CWs is thought to occur via a pathway of ammonification (DON  $\rightarrow$   $\text{NH}_4^+$ ), followed by coupled nitrification ( $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ ) and denitrification ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$ )<sup>2</sup>. Depending on the efficiency of these different microbial processes, N speciation of treated effluents will vary, and, conversely, monitoring N speciation can be used to determine which N cycling processes are favored or inhibited in CWs. Monitoring N speciation is also essential to preserve the quality of receiving waters (Tanner et al. 2002), as  $\text{NO}_3^-$  is less toxic and more easily removed in natural ecosystems than  $\text{NH}_4^+$ . Thus,  $\text{NO}_3^-$  export should be favored at constant N removal.

---

<sup>2</sup> DON : Dissolved organic N,  $\text{NH}_4^+$  : ammonium,  $\text{NO}_2^-$  : nitrite,  $\text{NO}_3^-$  : nitrate, NO : nitric oxide,  $\text{N}_2\text{O}$  : nitrous oxide,  $\text{N}_2$  : dinitrogen

Nitrification and denitrification are also receiving increasing attention, as they both produce a powerful greenhouse gas,  $N_2O$  (Mørkved et al. 2005).

Nitrification is generally the limiting step of N removal in HSSFCWs, as it is an aerobic chemo-autotrophic microbial process and oxygen diffusion is generally limited in HSSFCWs (Tanner and Kadlec 2003). In order to enhance N removal efficiency, oxygen must be provided to the nitrifying microbes through oxygenation of the wetland matrix via plant presence, artificial aeration or other means (e.g. diffusion). Planted (Lin et al. 2002) and aerated (Cottingham 1999, Higgins 2003) CWs generally have higher N removal rates, but artificial aeration seems to have a greater impact on the oxidation of the wetland matrix than plant presence (Maltais-Landry 2008 Chapter 2). Furthermore, nitrification is a temperature dependent process, and nitrification can vary depending on season (Kuschik et al. 2003) and become inhibited below  $10^{\circ}C$  (Werker et al. 2002), reducing the efficiency of CWs in colder climates.

The nitrified N must be processed via denitrification, an anaerobic and heterotrophic microbial process, in order to be permanently removed from CWs. Denitrification can be limited in CWs by lack of labile carbon, lack of nitrates and/or excessive oxygenation, but it is generally not the limiting step in N removal (Tanner and Kadlec 2003). However, N removal limitation by denitrification can occur, via nitrate loadings too high for carbon availability for example (Spieles and Mitsch 2000), or could be exacerbated by excessive oxygenation as a result of use of artificial aeration. Estimations of denitrification rates remain difficult, as direct (stable isotopes, acetylene blockage, membrane inlet mass spectrometry) and indirect measurements based on mass balance are often divergent (Lund et al. 2000, Smith et al. 2000). This implies that plant uptake and sediment storage could be underestimated N sinks (Kadlec et al. 2005), but generally denitrification is still believed to account for more than half of N removal in CWs (Søvik and Mørkved 2008).

Numerous studies have reported that plants stimulate N removal in CWs but the effect of different species remains poorly known, although plant species could have a significant impact on the functioning of CWs (Brisson and Chazarenc In press). Indeed, different plant species could influence N removal through differential rates of oxidation of the wetland matrix, supply of labile carbon, and transpiration. Different plant species can also respond differently to seasonal changes, interact divergently with artificial aeration, or represent a bigger invasion threat for surrounding ecosystems. Choosing a species is thus a delicate task where the various trade-offs need to be evaluated to ensure a proper choice.

Although previous studies have focused on N processing in CWs, few studies compare various treatments in the controlled conditions required to rigorously evaluate their relative effects on wastewater treatment. The objective of this study was to look at the seasonal variation of the role of three species of macrophytes (*Phragmites australis*, *Typha angustifolia*, *Phalaris arundinacea*) and artificial aeration on N processing. We did so using a mesocosm approach that allowed for the comparison of individual and combined effects of these treatments.

### 3.3 Materials and methods

#### 3.3.1 Experimental system

We used fourteen horizontal subsurface flow CW mesocosms (length: 1.25 m, width: 0.8 m, height: 0.3 m) located in a controlled greenhouse environment, at the Montreal Botanical Garden, Montreal, Québec, Canada. Details of the mesocosm design are illustrated in Figure 1.4. Two 1500 L refrigerated bulk tanks were used to store a reconstituted effluent at 4°C (Total N = 19.4 mg L<sup>-1</sup>, DON = 12.7 mg L<sup>-1</sup>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = 2.0

mg L<sup>-1</sup>, N-NO<sub>y</sub> = 0.3 mg L<sup>-1</sup>)\*. Peristaltic pumps distributed the effluent at 60 L m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> at the inlet of each mesocosm on a 24 hour schedule (15 L given at 6 AM, noon, 6 PM, midnight). The pumping design included an equilibration time in non-refrigerated reservoirs that allowed the inlet water to warm to ambient temperature when delivered to the different units. At the outflow of each unit, a graduated bucket was installed to collect and measure the quantity of treated effluent being discharged. Mesocosms were filled with river gravel (Ø 10-15 mm, porosity = 0.4), with a short section at the inlet (length: 0.1 m, width: 0.8 m, height: 0.3 m) filled with large gravel (Ø 30-40 mm, porosity: 0.35) to facilitate inlet water distribution. The distribution of inlet water was achieved by using a perforated PVC pipe that ran along the whole width of the coarser inlet zone of the mesocosms (0.08 m<sup>2</sup>) to allow for a homogeneous lateral water distribution. Two piezometers were also installed approximately 30 cm from the front and back edges, to allow for water sampling in the front and in the back of the mesocosms. The water table was kept 4 cm below the substrate surface.

Of the fourteen experimental mesocosms, six were artificially aerated. Aeration was achieved with a diaphragm air pump (General hydroponics Inc., Model AP-0025B) that diffused air continuously ( $2 \pm 1$  L min<sup>-1</sup>) near the bottom of the inlet in a horizontal, 20 cm diameter circle of tubing (Ø 10 mm). The aerated section of the mesocosms was entirely located before the first piezometer and consisted of roughly a quarter of the mesocosms' surface (~ 0.24 m<sup>2</sup>). Of the six aerated mesocosms, two were planted with *Phragmites australis*, two were planted with *Typha angustifolia*, and two were left unplanted. Of the eight non-aerated mesocosms, two were planted with *P. australis*, two were planted with *T. angustifolia*, two were planted with *P. arundinacea*, and two were left unplanted. The wetlands were constructed and planted in May 2002 (Ouellet-Plamondon et al. 2006),

---

\* N-NO<sub>y</sub> stands for the sum of N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> in this manuscript.

therefore plants were fully mature (fifth growing season) during this study. However, two units planted with *P. australis* (one aerated and one non-aerated) had to be partly replanted in April 2006 due to high mortality in the winter of 2005-2006. The four mesocosms planted with *P. australis* also suffered an important aphids attack from the end of July to the middle of August 2006, regardless of presence or absence of artificial aeration. This attack did not affect the other species of macrophytes. As a result, plant health and growth for *P. australis* decreased from late July until August 24<sup>th</sup>, when an insecticide treatment halted the attack. Units planted with *P. australis* started to recover soon after with plant health/growth returning to normal within a few weeks after insecticide treatment.

The experimental setup was maintained in semi-controlled temperatures following a seasonal trend during the experiment (May to December 2006). Summer and fall temperatures in the greenhouse were similar to outdoor temperatures. Winter air temperatures were maintained slightly above 5°C to prevent the experimental setup from freezing. Although ambient air temperatures were warmer in our experimental setup than typical winter temperatures in temperate climates, our winter water temperatures were similar to those observed in full-scale CWs insulated by snow cover with warm inlet wastewater. The greenhouse was shaded from the 20<sup>th</sup> of November to simulate the light attenuation caused by a snow cover.

Various types of wastewater can be treated by CWs, where domestic is the most common. In this study, we focused on the treatment of a fish farm effluent. For our experiments, concentrated effluent was reconstituted with decanted sludge from a freshwater trout farm located in St-Damien-de-Buckland (Québec, Canada). The composition of the effluent we chose to treat was closely related to that of average municipal wastewater (Comeau et al. 2001). Mesocosms were supplied with this reconstituted effluent at a rate of 60 L m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> beginning May 15<sup>th</sup> 2006. This rate was

found to be optimal for N removal in this experimental setup and resulted in a theoretical residence time of approximately 1.7 days (Maltais-Landry et al. 2007).

### 3.3.2 *Water sampling methods*

Water samples for chemical analyses were taken between 9 AM and noon on 10 sampling dates from July 5<sup>th</sup> to December 21<sup>st</sup> 2006. Water samples were taken from the two refrigerated tanks and integrated samples were taken at the outlet of each mesocosm after the 24 hours of the feeding schedule. Samples for total N (TN) were analyzed directly and samples for DOC, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (referred to as N-NO<sub>y</sub> for the rest of the manuscript), N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, and total dissolved N (TDN) were pre-filtered (Nalgene SFCA 0.45µm) immediately after sampling. DOC was measured by the wet chemistry method on an OI Analytical Aurora 1030 TOC analyzer. N-NO<sub>y</sub> and N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> were measured by automated flow injection analysis (Lachat methods 10-107-04-1-B and 10-107-06-1-F), and TN and TDN were measured as N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> after alkaline persulfate digestion of 50 mL samples at 120 °C (D'Elia et al. 1977). DON was determined as the difference between TDN and the dissolved inorganic forms. Particulate N (PN) was calculated as the difference between TN and TDN. Temperature and redox potentials were measured using a YSI multi-probe (YSI model 556) in the piezometers on each sampling date.

### 3.3.3 *Mass balance calculations*

Total daily pollutant mass removal efficiency, in percentage, was calculated using the following equation:

$$R = \left( 1 - \frac{Ed * Ec}{Id * Ic} \right) * 100 \quad (1)$$

where  $R$  = Removal efficiency (%),  $I_d$  = Inlet discharge rate ( $L\ m^{-2}\ d^{-1}$ ),  $I_c$  = Inlet concentration ( $g\ L^{-1}$ ),  $E_d$  = Effluent discharge rate ( $L\ m^{-2}\ d^{-1}$ ),  $E_c$  = Effluent concentration ( $g\ L^{-1}$ ). We also calculated total daily pollutant mass export (in  $g\ m^{-2}\ d^{-1}$ ), using the following equation

$$Ex = Ed * Ec \quad (2)$$

where  $Ex$  = mass export ( $g\ m^{-2}\ d^{-1}$ ),  $E_d$  = Effluent discharge rate ( $L\ m^{-2}\ d^{-1}$ ),  $E_c$  = Effluent concentration ( $g\ L^{-1}$ ). Mass export can be used in our study because the composition of the inlet is controlled and does not vary significantly among days, weeks and months (coefficient of variation < 10%).

In this study, removal of N was compartmentalized in four removal terms: plant uptake, sediment storage,  $N_2O$  production via nitrification and incomplete denitrification, and complete denitrification as  $N_2$  production. For plant uptake estimations (see section 3.3.5 for details) we only considered aboveground biomass. Given that mesocosms were older (4 years) than the 1.5-3 years turnover rate of belowground biomass estimated for *Typha* and *Phragmites*, belowground uptake should be more than compensated by release through decaying plant matter, resulting in a negligible net N retention in belowground biomass.  $N_2O$  production was measured directly (see section 3.3.4 for details). Sediment storage was estimated as PN retention and denitrification was estimated as the residual fraction of removal via mass balance. As our sampling protocol cannot separate denitrification from other microbial processes that produce N gas these will be treated together as denitrification. We calculated the contribution of each of these N loss or storage terms on an annual scale.



### *3.3.4 Gas sampling methods*

Samples were collected for the measurements of N<sub>2</sub>O gas and its partial pressure was determined using headspace equilibration at ambient temperature (Richey et al., 1988), described in details for CWs by Maltais-Landry (2008 Chapter 2). Briefly, a large BOD bottle (1.1 L) was gently filled with water from the piezometers of the mesocosms (Figure 1), the bottles were sealed with a gas tight cap, and 120 mL of water was removed and an equivalent volume of ambient air was introduced to create a headspace within the bottles. Bottles were vigorously shaken for two minutes, and gas samples (9 mL) were taken from the headspace and immediately transferred to gas tight pre-evacuated vials with a thick butyl stopper and an aluminium ring. Equilibrations were carried out in water collected from both the front and the back piezometers, and each equilibration provided triplicate subsamples of headspace gas. All samples were taken on the day of water sampling, between 9 AM and noon. Ambient air concentrations were taken at each sampling time and were used to correct for the introduction of ambient air inside the bottles. Samples were analyzed by gas chromatography, using an ECD detector on a Shimadzu GC-2014 with a Tekmar 7050 autosampler and a Poropak Q (80/100) column to separate gases, and N<sub>2</sub> as the carrier gas (40 mL min<sup>-1</sup>).

### *3.3.5 Plant uptake estimation*

We took samples from all of the mesocosms for plant uptake estimation on the morning of July 18<sup>th</sup> 2006. In each mesocosm, three plants (leaves and stems when applicable) were sampled from the front of the unit and three were taken from the back. Each sample was hand washed to remove insects and dust on the day of collection. Samples were freeze-dried and reduced to fine homogenous powder. Nitrogen content analysis

where conducted with a Carbo Erba EA 1108 Elemental Analyser using acetanilide as a calibration standard.

Total biomass was estimated by collecting all the above-ground biomass on November 28<sup>th</sup> 2006 and weighting its wet biomass. A subsample of the wet biomass (~10%) was then dried at 65 °C until constant weight, and this subsample was used to estimate total dry weight biomass. Using total aboveground biomass and its relative nitrogen content, we were able to estimate plant uptake for the growth season of 2006.

### *3.3.6 Hydraulic retention time distribution*

Hydraulic retention time distribution (HRT) was measured by tracer tests. In each mesocosms, 15 L of tracer (0.4 g Br<sup>-</sup>/L) were injected over a period of 5 minutes and outlet concentrations were measured for a period of seven days. Evapotranspiration (ETP) was estimated as the difference between inflow and outflow. Outlet concentrations coupled with ETP estimations were used to draw normalised E-curves and HRT was determined as the centre of gravity of the E-curves according to Levenspiel (1972).

### *3.3.7 Statistical analyses*

We used analyses of variance (ANOVAs) followed by tests of comparison of means (Tukey HSD) to test the effect of artificial aeration, and species of macrophytes on plant uptake (two way ANOVAs). The effects of artificial aeration, species of macrophytes and season on N removal or export were tested with three way ANOVAs. Because our experimental design was not balanced (*P. arundinacea* had no aerated treatment), two sets of analyses were used. The first set included the aerated and non-aerated units of the macrophytes that had aerated treatments only (*P. arundinacea* excluded), and the results from the ANOVA and the Tukey's tests are both reported in the results. The second set

included only non-aerated units from all macrophytes (*P. arundinacea* included), and the results from the ANOVA are not reported in the results, although the results from the Tukey's test are presented in the relationship among macrophytes in non-aerated units. Most of the variables met normality assumptions and had homogeneous variance. We used a non-parametric ranking method when necessary. ANOVAs were performed using SPSS version 16.0 software (SPSS, Inc., Chicago), and were considered significant at the 0.05 level.

We also used path analysis to explore the validity of different causal models to explain the patterns we observed among treatments. Path analysis is an extension of multiple regression whereby the linear relationships among variables are not only identified and parameterized but can also be categorized as direct, indirect, and non-causal (Troussellier et al. 1986). In this sense, intermediate relationships can be isolated. Different causal models may be tested where the most robust has the highest  $R^2$  or the adjusted  $R^2$  ( $R^2_a$ ) of the multiple regression (Legendre and Legendre 1998). Data used in our path analyses that did not meet normality assumptions were transformed using the Box-Cox method (Legendre and Legendre 1998). Path analyses were performed using the software PISTE version 3.1 (Vaudor, Casgrain and Legendre, <http://www.bio.umontreal.ca/Casgrain/en/labo/index.html>). Selection of predictive variables was confirmed by running stepwise multiple regressions in SPSS.

### 3.4 Results

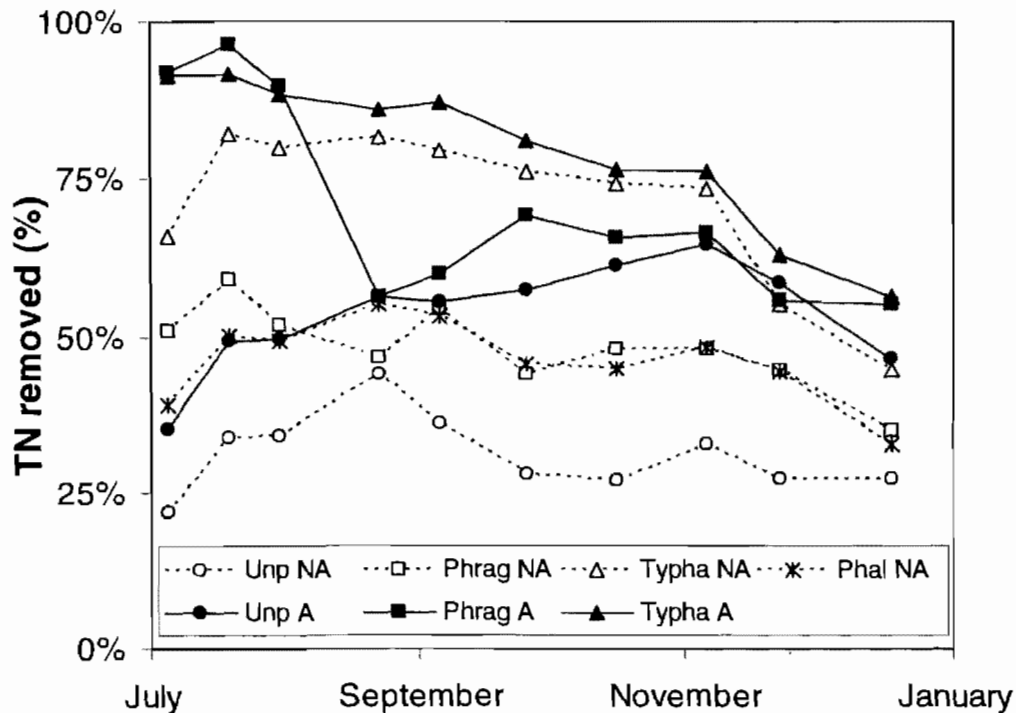
#### 3.4.1 N retention, transformations and export

Total N removal varied among treatments and season ranging from 22.9% (non-aerated unplanted, July 5<sup>th</sup>) to 96.3% (aerated *P. australis*, July 17<sup>th</sup>) of TN load. Mean

removal was highest in aerated units planted with *T. angustifolia*, and *P. arundinacea* behaved similarly as non-aerated *P. australis* (Figure 3.1, Table IV). Aerated treatments were always more efficient within each macrophyte treatment (Figure 3.1, Table IV). The relationship among plant treatments was the same regardless of artificial aeration (*T. angustifolia* > *P. australis* > unplanted), but the difference between *T. angustifolia* and *P. australis* was only statistically significant in non-aerated units (*T. angustifolia* ≈ *P. australis* > unplanted in aerated units) (Figure 3.1, Table IV). Summer and fall removal were generally higher than winter removal, but the trend was only statistically significant in units planted with *T. angustifolia* (Figure 3.1, Table IV). All macrophyte treatments were different in summer and fall (except for the comparison between *P. arundinacea* and *P. australis*) whereas only *T. angustifolia* was superior to unplanted CW mesocosms during the winter (Figure 3.1, Table IV).

**Table IV:** ANOVA statistics for TN export among treatments, with degrees of freedom (df) and results from the Tukey HSD tests. Only statistically significant results ( $p < 0.05$ ) are shown. *P. arundinacea* and non-aerated *P. australis* are treated together unless stated otherwise. Signification: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ .

Variable	Term	ANOVA			Tukey's HSD					
		F	df	Sig						
TN	Model	25.0	17	***						
	Mac (M)	66.6	2	***						
	O <sub>2</sub> (O)	76.7	1	***	- O <sub>2</sub>	A				
					+ O <sub>2</sub>	B				
	Season (S)	15.4	2	***						
	M X O	7.0	2	**	+ O <sub>2</sub>	<i>Typha</i>	B	- O <sub>2</sub>	<i>Typha</i>	C
						<i>Phragmites</i>	B		<i>Phragmites/Phal</i>	B
						Unplanted	A		Unplanted	A
					Summer/Fall	<i>Typha</i>	C	Winter	<i>Typha</i>	B
						<i>Phragmites/Phal</i>	B		<i>Phragmites/Phal</i>	AB
					Unplanted	A		Unplanted	A	
				<i>Typha</i>	Summer/Fall	B	Other mac	Summer/Fall	A	
					Winter	A		Winter	A	



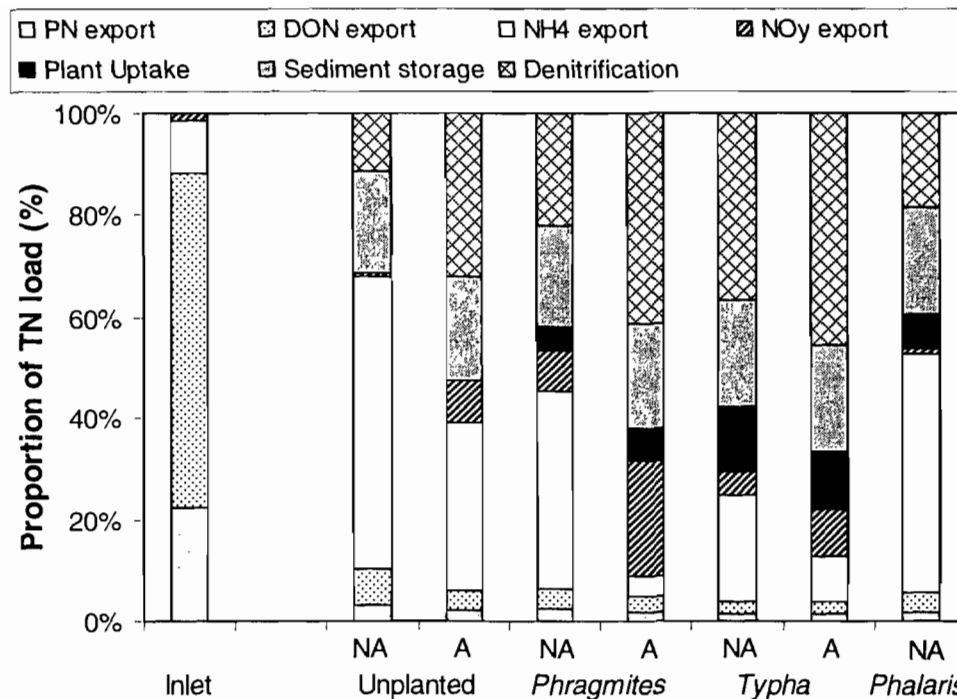
**Figure 3.1:** TN removal as a function of time. In each macrophyte treatment, A = aerated and NA = non-aerated.

The pattern and efficiency of TN removal was partially reflected in the export of different N species (Figure 3.2, Table V). Particulate N export was slightly higher in aerated units and planted units, although only *T. angustifolia* wetlands differed from unplanted ones (Table V). Dissolved organic N export was low everywhere and did not vary significantly with treatments (Table V). The export of  $\text{NH}_4^+$  followed the same pattern as TN removal: lower in aerated units, summer and fall, and in planted units, with a significant interaction between aeration and macrophytes (Figure 3.2, Table V). Finally,  $\text{NO}_y$  export varied according to macrophyte treatment (lowest in unplanted and *P. arundinacea* compared to *P. australis*), artificial aeration (higher export in aerated units) and season (lower export in summer) (Figure 3.2, Table V). These differences resulted in a differential speciation of treated effluents: mainly  $\text{NO}_y$  (45%-65%) in *T. angustifolia* and *P.*

*australis* aerated units, and  $\text{NH}_4^+$  (68%-88%) in all other treatments. Dissolved organic N and PN combined always accounted for less than 30% of N in treated effluents.

**Table V:** ANOVA statistics for N species export among variables and treatments, with degrees of freedom (df) and results from the Tukey HSD tests. With the exception of the model for DON, only statistically significant results ( $p < 0.05$ ) are shown.

Variable	Term	ANOVA			Tukey's HSD			
		F	df	Sig				
PN	Model	2.7	17	**				
	Mac (M)	5.1	2	**	<i>Typha</i>	B		
					<i>Phragmites/Phal</i>	AB		
					Unplanted	A		
	$\text{O}_2$ (O)	8.5	1	**	- $\text{O}_2$	A		
					+ $\text{O}_2$	B		
DON	Model	1.6	17	ns				
	Season (S)	7.0	2	**	Summer	A		
					Fall/Winter	B		
$\text{NH}_4^+$	Model	19.9	17	***				
	Mac (M)	48.2	2	***				
	$\text{O}_2$ (O)	116.2	1	***	- $\text{O}_2$	A		
					+ $\text{O}_2$	B		
	Season (S)	12.8	2	***	Summer/Fall	B		
					Winter	A		
	M X O	9.9	2	***	+ $\text{O}_2$ <i>Typha</i>	B	- $\text{O}_2$ <i>Typha</i>	C
					<i>Phragmites</i>	B	<i>Phragmites/Phal</i>	B
				Unplanted	A	Unplanted	A	
NOy	Model	8.0	17	***				
	Mac (M)	17.0	2	***	<i>Typha</i>	AB		
					<i>Phragmites</i>	A		
					<i>Phalaris</i>	B		
					Unplanted	B		
	$\text{O}_2$ (O)	29.5	1	***	- $\text{O}_2$	B		
					+ $\text{O}_2$	A		
	Season (S)	21.3	2	***	Summer	B		
				Fall/Winter	A			



**Figure 3.2:** Proportion of TN load (means, on a percentage basis) as different species (PN, DON, NH<sub>4</sub>, NO<sub>y</sub>) in the inlet and the outlet among different wetland treatments. In each macrophyte treatment, A = aerated and NA = non-aerated.

The TN removal observed in this study is the result of four main processes: plant uptake, sediment storage, N<sub>2</sub>O production via nitrification and incomplete denitrification, and removal via complete denitrification as N<sub>2</sub> production. Nitrous oxide production was considered negligible, as it accounted for less than 0.1% of TN removal in all conditions (results not included in Figure 3.2). Denitrification as N<sub>2</sub> was the main form of removal (47 to 62% of removal) for all treatments, except *P. arundinacea* and non-aerated unplanted, in which sediment storage (46% and 63% of removal respectively) was the main N sink (Figure 3.2). As our denitrification estimates are based on mass balance, their uncertainty is therefore the sum of the uncertainties of the other measurements. Hence, depending on treatment, the proportion of removal attributed to denitrification is the value presented  $\pm$   $\sim$ 15% of removal proportion, with the error ranging from  $\sim$ 9% (unplanted non-aerated) to

~23% (non-aerated *P. australis*). Plant uptake accounted for less than 20% of removal and varied among macrophytes species ( $F = 6.1$ ,  $df = 2$ ,  $p < 0.05$ ) but not between aerated and non-aerated units ( $F = 0.004$ ,  $df = 1$ ,  $p > 0.05$ ) (Table VI). Units planted with *T. angustifolia* removed more than units planted with *P. australis* or *P. arundinacea* because of higher biomass production rather than higher N content, roughly similar among all species (Table VI).

**Table VI:** Biomass, N content and contribution of plant uptake to N removal (as  $\text{g N m}^{-2} \text{y}^{-1}$ , % removal, % load) according to macrophytes species and presence of artificial aeration.

Macrophyte	Aeration	Biomass	N content	N removal		
		Kg	(%)	Uptake (g)	% removal	% load
<i>Typha</i>	No	2.48	2.20	54.0	18.9	13.0
	Yes	2.21	2.16	48.0	15.4	11.6
<i>Phragmites</i>	No	1.27	2.01	26.8	9.7	6.4
	Yes	0.92	2.06	19.8	9.9	4.8
<i>Phalaris</i>	No	1.93	1.45	27.7	14.8	6.7

#### 3.4.2 Causal models of N export

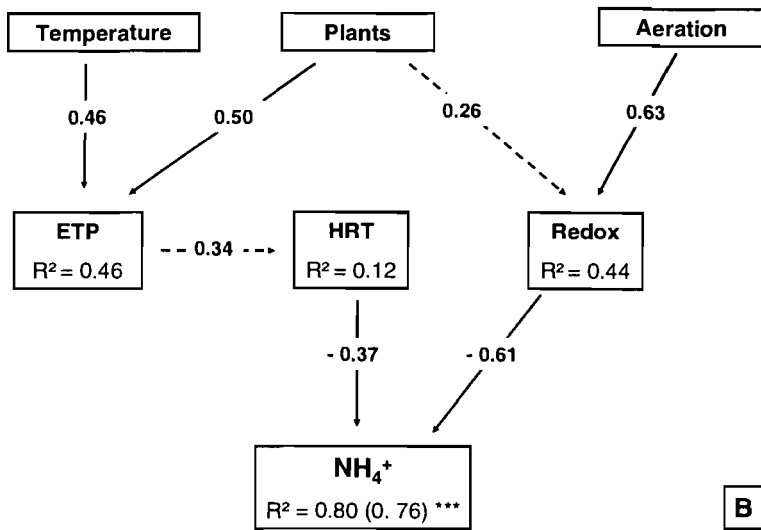
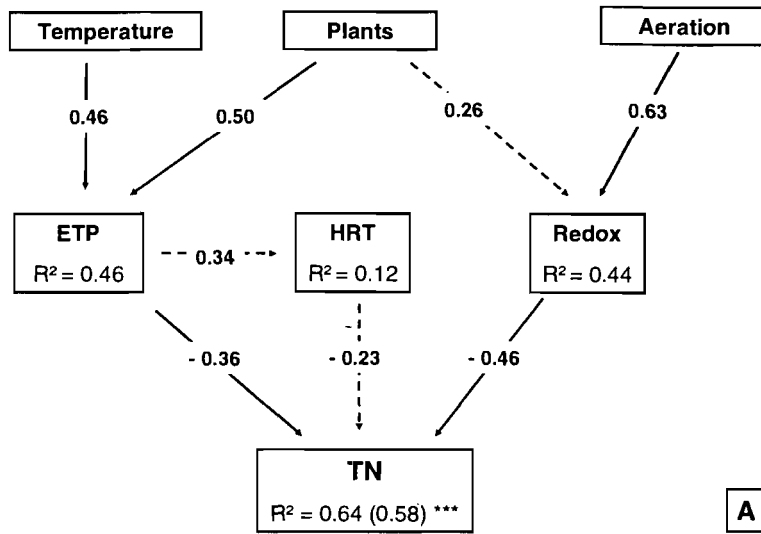
Path analysis was used to test different causal models to explain the variation in export of TN,  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_y$  using predictive variables such as redox potentials (range: -275 to  $> +100$  mV), ETP (range: 0 to  $24 \text{ L m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ), and HRT (range: 27 to 44 hours) (Figure 3.3). The major advantage of path analysis over ordinary multiple regression is that it allows direct and indirect relationships among variables. Hence, it allows intermediate relationships to be tested and may be used to compare direct and indirect paths, such as plant uptake and plant-mediated effects on oxygenation of the wetland matrix respectively. All the direct predictive variables selected by path analysis and presented here were also selected using stepwise multiple regressions.

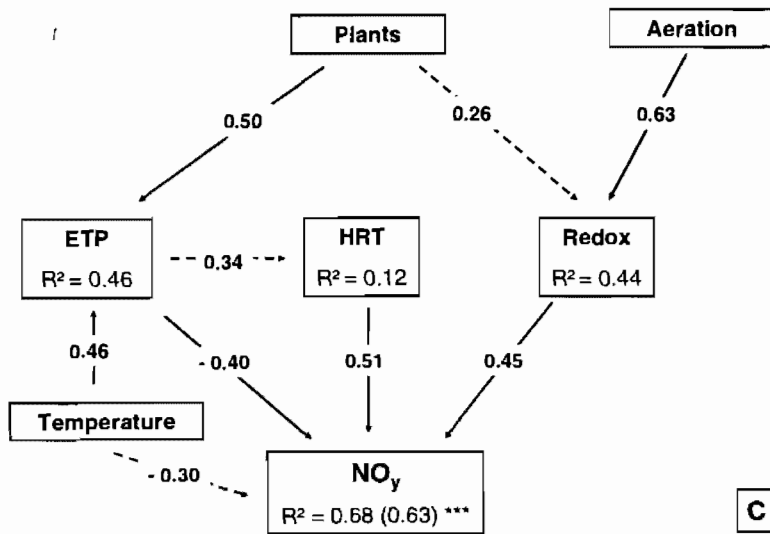


The best model predicting TN export was quite robust explaining about 60% ( $R^2_a = 0.58$ ) of the variation of the data (Figure 3.3a). The most important predictive variables were redox, followed by ETP and HRT, which were all negatively correlated with TN export (Figure 3.3a). Artificial aeration and plants both positively influenced redox potential, but the path of influence of artificial aeration was greater on TN export. The direct causal effect of plants on ETP was stronger than on redox. However, given that redox had a greater direct relationship with TN export compared to ETP, the strength of both paths of plant influence are approximately equal (Figure 3.3a). Plant presence, temperature and DOC did not have a significant direct effect on TN export.

The best model for  $\text{NH}_4^+$  had slightly more predictive power than the one for TN, accounting for roughly three quarters of the variation ( $R^2_a = 0.76$ ; Figure 3.3b). As for TN, redox and HRT also had a negative and significant influence on  $\text{NH}_4^+$  export (Figure 3.3b). The predictive power of redox was much greater than the one of ETP in this model, thus the effect of plants on  $\text{NH}_4^+$  export was most likely a function of the plants' influence on redox than on ETP. Plant presence, ETP and temperature had no direct significant effects.

Hydraulic residence time, redox, ETP, and temperature were all significant direct predictor variables of  $\text{NO}_y$  export, and the final model had a good predictive power ( $R^2_a : 0.63$ , Figure 3.3c). Higher redox and HRT resulted in an increase in  $\text{NO}_y$  export whereas the relationship with ETP and temperature was negative (Figure 3.3c). Plant presence and DOC had no significant direct impact on  $\text{NO}_y$  export. For  $\text{NO}_y$ , as the predictive power of HRT and ETP is greater than the one for redox, the model suggests that plants would have a greater impact on  $\text{NO}_y$  export via ETP than via redox.





**Figure 3.3:** Causal models obtained using path analysis for the export of A) TN, B) NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, and C) NO<sub>y</sub>. Adjusted R<sup>2</sup> are given in parentheses after R<sup>2</sup>, and \*\*\* denotes a significant relationship (p<0.001). Significant relationships are represented by dotted arrows (p<0.05), full arrows (p<0.01), and non-significant predictors are not included in the models. Numbers in the arrows are standardized coefficients of multiple regression. The positive or negative sign associated with the coefficients describe the direction of the relationship.

### 3.5 Discussion

The purpose of this study was to investigate the effects of different plant species and artificial aeration on N processing in CWs using a comparative design in order to clearly identify the relative importance of different treatments individually and in combination on the removal of N among seasons. We did this by looking directly at the differential fate of nitrogen and the various nitrogen species exported from several CW treatments over time. We also used path analysis to better understand the global relative influence of variables among treatments as this statistical tool allowed us to discriminate between the direct and indirect effects of different treatments on N export. Identifying the main mechanisms that reduce the oxygen deficit in the wetland matrix under different conditions is crucial to

stimulate N removal as oxygen availability to the nitrifying bacteria is the most rate limiting step observed in N removal in CWs (Tanner and Kadlec 2003).

We found that artificial aeration had the strongest path of influence on oxygen availability and N removal, similar to previously reported results in this system (Maltais-Landry 2008 Chapter 2). Artificial aeration increased N removal on average by 11% in systems planted with *T. angustifolia*, 46% for *P. australis* and 70% in unplanted treatments compared to non-aerated conditions. Removal was also generally higher during the summer, when temperatures were highest (Kuschik et al. 2003). This increase may be a function of the stimulation of nitrification in aerated conditions supplying more  $\text{NO}_y$  to denitrification (Cottingham et al. 1999). Coupled nitrification-denitrification is the desirable outcome of N processing in CWs as it results in the permanent removal of N as  $\text{N}_2$  gas (Firestone and Davidson 1989). However, the increased oxygenation that stimulated nitrification also enhanced  $\text{NO}_y$  export, with greater amounts being exported during fall and winter. This suggests that CWs may saturate their denitrification capacity, as it has been observed in natural ecosystems (Mulholland et al. 2008). Nevertheless, the higher redox conditions that could potentially limit anaerobic denitrifying bacteria in aerated units never prevented these treatments to outperform non-aerated ones for TN removal.

Apart from artificial aeration, oxygen availability and N removal may also be enhanced by plant presence (Lin et al. 2002). Plants increased N removal by 48% to 128% compared to unplanted controls in non-aerated conditions, likely through enhanced nitrification via oxygen delivery to the wetland matrix through the rhizosphere. However, non-aerated planted units exported N mostly as  $\text{NH}_4^+$ , suggesting that the N load could not be fully nitrified (Tanner and Kadlec 2003) especially in winter when nitrification is thought to become inhibited (Werker et al. 2002). This indicates that artificial aeration is required in planted conditions to maximize the nitrification capacity of CWs and

substantially reduce the export of  $\text{NH}_4^+$ . Furthermore, the increase of 31% to 49% in N removal observed in planted units with aeration highlights the other paths by which plants influence N removal apart from plant uptake and oxygenation of the wetland matrix. Based on path analysis, the indirect effect of plants on hydrology via ETP and HRT was the main path of influence of plants on  $\text{NO}_y$  export. This suggests that plants influenced TN removal via two paths of roughly equal importance: enhanced oxygenation through the rhizosphere that stimulated nitrification, and the alteration of hydrology affecting denitrification. As retention times in this study were short (less than two days) and lower than the 5-10 days recommended loading rates for CWs (Kadlec and Knight 1996), the effects of plants on hydrology could be even more important in full-scale CWs with longer HRT. Furthermore, plants could lead to smaller, and therefore cheaper, but equally efficient CWs as the increased HRT found in planted CWs would have to be compensated by larger and more expensive unplanted CWs to obtain the same level of N removal. The unexpected importance of hydrology indicates that oxygen transfer could be less important in the global contribution of plants to CWs than previously thought (Brix 1994). However, the important role of hydrology and increased water residence time on N retention had previously been demonstrated across aquatic ecosystems (Saunders and Kalff 2001). Regardless of the processes involved, the presence of healthy plants improved TN removal in CWs.

The benefits of plants are generally accepted, but the relative benefits among different plant species remains unclear (Brisson and Chazarenc In press). In our study, units planted with *T. angustifolia* outperformed units planted with *P. australis* and *P. arundinacea*. Although *P. arundinacea* has been found previously to be less efficient than the other species (Ouellet-Plamondon 2004), there is typically no obvious differences in N removal capacity between *T. angustifolia* and *P. australis* (Brisson and Chazarenc In press). Indeed, Bastviken et al. (2005) observed that differentiation among plants was more

affected by macrophyte type (submerged vs. emergent) rather than by species, and that detritus from *P. australis* and *T. latifolia* had similar potential denitrification rates. Winter mortality and a severe aphids attack in units planted with *P. australis* could explain the superiority of *T. angustifolia* over *P. australis* in this study. However, the attenuation of the difference between the two species in aerated conditions and the higher NO<sub>y</sub> export observed in *P. australis* suggest that oxygen delivery could also explain this difference. This illustrates the need to investigate more thoroughly the mechanisms by which plant species differ, and to consider plant health as importantly as plant presence and species.

In addition to oxygen availability and hydrology, denitrification, a heterotrophic process, could be limited by the availability of carbon (Speiles and Mitsch 2000), but DOC never came out significant in our models. Bulk DOC measurements however do not necessarily reflect the bioavailability of the carbon substrates to bacteria and other studies have shown that plants may influence C lability (Picek et al. 2007). Therefore, an index of carbon bioavailability would have been more useful to evaluate the influence of carbon on N processing. Indeed, the ratio of DOC consumed to N removed by denitrification (mean C:N observed: 1.82, range: 0.84 - 4.57) was between the theoretical ratio of 1.07 (Picek et al. 2007) and the optimal ratio of 3.5 (Lin et al. 2002), suggesting an important role for carbon in N removal despite the non-statistically significant result we found.

The estimates of denitrification, N<sub>2</sub>O fluxes and ratios of N<sub>2</sub>O to N removed we report here are within the range and of similar magnitude compared to other CWs studies (Stradmark and Leonardson 2005). However, our estimates of denitrification should be considered conservative as we assumed that none of the stored N will be denitrified. The N accumulation rates in sediment reported in this study (237 mg N m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>) and importance of sediment storage (27%-63%) are similar to those reported by Kadlec et al. (2005), 213 mg N m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> and 22%-37% of N retention respectively. However, recent findings using

isotopic fractionation determined that denitrification accounted for more than 53% (up to 99%) of N removal (Søvik et Mørkved 2008), suggesting that denitrification should be more important in our system. This implies that a fraction of the N stored in sediments will eventually fuel denitrification, which is consistent with the sustainable N removal observed in this system over time (Ouellet-Plamondon et al. 2006, Maltais-Landry et al. 2007).

Determining the fate of the N stored in sediments and the importance of denitrification is crucial as underestimating internal storage may reduce the useful treatment life of a CW (Smith et al. 2000). Estimating the fraction of N permanently removed via denitrification is a subject hotly debated in the CW literature because different approaches yield divergent estimates. Direct measurements (N<sub>2</sub> production, stable isotopes, acetylene block) typically result in more conservative estimates of denitrification (8 to 53% N removal) whereas the indirect mass balance approach usually results in higher ones (60% to more than 85% N removal) (Xue et al. 1999, Bachand and Horne 2000, Lund et al. 2000, Smith et al. 2000, Tanner et al. 2002, Poe et al. 2003). Some direct measurements will underestimate denitrification because of the inhibition of nitrification as a function of partial acetylene blockage (Yu et al. 2008) or the difficulties associated with determining the correct fractionation factor for stable isotopes (Lund et al. 2000). Mass balance approaches typically overestimate denitrification because the N retained has multiple fates (Smith et al. 2000) and will not necessarily all be lost to the atmosphere as gas. As direct and indirect estimates of the importance of denitrification don't often overlap, studies like this one are helpful as they demonstrate that denitrification estimates based on mass balance can constrain and be comparable to those from direct measurements, thus contributing to their validation. Indeed, the greater importance of denitrification we found compared to sediment storage and plant uptake was consistent with studies in CWs (Søvik et Mørkved 2008) and natural wetlands (Saunders and Kalff 2001).

### 3.6 Conclusion

Total N removal was stimulated in aerated units, planted units, and during the summer. This removal was mainly due to coupled nitrification-denitrification in most treatments, but sediment storage seemed to be the main N sink in the two least optimal treatments (non-aerated unplanted, *P. arundinacea*). Artificial aeration and plants (to a lesser extent) supplied oxygen to the wetland matrix, stimulating nitrification and resulting in a lower export of  $\text{NH}_4^+$  in planted and aerated units, especially during the summer. However, this increased oxygenation may have partially inhibited denitrification, leading to  $\text{NO}_y$  export. This result was more pronounced in the fall and winter, where temperature likely inhibited coupled nitrification-denitrification. Among the species we studied, *T. angustifolia* had the best performances on N removal and processing.

Our experiment suggests that plants affected N cycling via increased oxygenation and altered hydrology, which were good predictors for nitrification and denitrification, respectively. According to path analyses, artificial aeration was the main contributor to the oxygenation of the wetland matrix, although plant presence played a significant role. This confirms that the best results for N removal are obtained with the combination of both factors. Indeed, artificial aeration could partially substitute the effects of plants in oxidizing the wetland matrix, but the other roles of plants cannot be easily substituted without seriously altering the extensive nature of CWs. The simplest and most efficient solution to maintain extensive CWs remains to use planted systems, because of their higher efficiency in N removal and processing and because of the other multiple benefits they provide. However, artificial aeration should be added to planted systems if costs allow it, and will improve N retention under colder conditions.



### 3.7 Acknowledgements

Special thanks go to Y. Foucard for sampling assistance and mesocosm maintenance, C. Blanchet, N. Boulanger-Lapointe, M.-P. Gauthier, G. Morin-Dion, D. Nguyen, and L. Tall for sampling assistance, M. Bouffard, A. Lauzé and C. Beauchemin for nutrient analyses, V. Gagnon for kindly providing Figure 1.4. This research was funded by the Natural Sciences and Engineering Research Council (NSERC) of Canada student scholarship to GML, an NSERC Discovery and an FQRNT Strategic professor grant to RM and a Strategic grant to JB. This study is a contribution to the *Groupe de recherche interuniversitaire en limnologie* (GRIL).

**CHAPITRE 4: Greenhouse gas production and global efficiency of planted and artificially aerated constructed wetlands**

Gabriel Maltais-Landry, Roxane Maranger, Jacques Brisson, and Florent Chazarenc

Manuscrit en préparation pour la revue *Science of the total environment*

#### 4.1 Abstract

The production of greenhouse gases (GHG) in constructed wetlands (CWs) is receiving increasing attention as important emissions could mitigate the environmental benefits of these systems. We studied the contribution of 3 different macrophyte species (*Phragmites australis*, *Typha angustifolia*, *Phalaris arundinacea*) and artificial aeration across three seasons on GHG production in CW mesocosms. We measured fluxes of nitrous oxide (N<sub>2</sub>O), carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) and methane (CH<sub>4</sub>) in addition to nutrient export and hydraulic properties. Greater oxygen availability in aerated units reduced CH<sub>4</sub> fluxes and GWP, and induced a shift from CH<sub>4</sub> to CO<sub>2</sub> as the main contributor to GWP. Plant presence decreased CH<sub>4</sub> fluxes and GWP and increased fluxes of CO<sub>2</sub>, likely as a function of increased oxygen availability and bacterial activity, respectively. Among the macrophyte species surveyed, *T. angustifolia* had the lowest GHG production. Greenhouse gas production and GWP were higher during the summer, probably because of increased bacterial activity. Nitrous oxide had a minor contribution to GWP in all treatments, but the pattern among treatments was unclear. As a function of oxygen presence, artificially aerated and planted units had the overall best performance among the treatments tested in this study, including lowest GWP, greatest nutrient removal, and best hydraulic properties.

Keywords: Horizontal subsurface constructed wetlands, nitrous oxide, methane, carbon dioxide, artificial aeration, macrophytes

## 4.2 Introduction

Constructed wetlands (CWs), an extensive and efficient alternative to conventional wastewater treatment facilities, have been used increasingly in the last decades to reduce excessive nutrient loading attributable to human activities (Vymazal 2005). Pollutant removal in these systems is attributed to physical, chemical and biological processes, with biological microbial processing providing the greatest potential for the sustainable removal of organic matter and nitrogen (N) in CWs. The microbial processing of carbon (C) and N however generates several byproducts that are potent greenhouse gases (GHG): carbon dioxide (CO<sub>2</sub>), nitrous oxide (N<sub>2</sub>O), with a global warming potential (GWP) 296 times that of CO<sub>2</sub>, and methane (CH<sub>4</sub>), with a GWP 23 times that of CO<sub>2</sub> (IPCC 2001). Heavy nutrient loading to CWs stimulates bacterial activity and nutrient processing, resulting in higher areal fluxes of CH<sub>4</sub> (Huang et al. 2005), N<sub>2</sub>O (Martikainen et al. 1993), and CO<sub>2</sub> (Paludan and Blicher-Mathiesen 1996) compared to natural wetlands. As the area covered by CWs is increasing globally, quantifying the amounts, the relative importance and the main factors controlling GHG production in these systems deserves increasing attention.

Oxygen (O<sub>2</sub>) and C availability control the rate of methanogenesis, as the microbial breakdown of organic matter in anaerobic conditions results in the production of CH<sub>4</sub>. Nitrous oxide production also varies as a function of O<sub>2</sub> and C, as it originates from a chemo-autotrophic aerobic microbial process, nitrification, and an anaerobic heterotrophic microbial process, denitrification (Mørkved et al. 2005). These processes have contrasting C and O<sub>2</sub> needs (Firestone & Davidson 1989), two elements whose availability is spatially and temporally heterogeneous in CWs. Therefore, the reported fluxes of N<sub>2</sub>O (range: -14 to 960 mg N-N<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>) and CH<sub>4</sub> (range: -377 to 38000 mg C-CH<sub>4</sub> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>) are not only high but also variable in CWs (Søvik et al. 2006, Ström et al. 2007). Organic matter breakdown via aerobic and anaerobic respiration also produces CO<sub>2</sub> contributing to GWP (range of

fluxes: -840 to 93000 mg C-CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>), although this may be counterbalanced by carbon fixation via photosynthesis in planted CWs (Liikanen et al. 2006, Søvik et al. 2006).

Key factors controlling O<sub>2</sub> and C availability in CWs such as plant presence and species, use of artificial aeration, and season, are likely to have a profound effect on the processes responsible for GHG production. Plants stimulate CO<sub>2</sub> production (Liikanen et al. 2006) via their influence on O<sub>2</sub> and C, but their effect on other GHG remains unclear. Published results of N<sub>2</sub>O fluxes are conflicting as some studies report fluxes to be lower (Johansson et al. 2003) or higher (Rückauf et al. 2004) in planted units compared to unplanted controls. Similarly, plant presence may reduce (Grünfeld and Brix 1999) or increase (Wild et al. 2001) CH<sub>4</sub> fluxes. Also, little is known about potential differential effects on GHG fluxes among plant species. Using artificial aeration to complement the oxygenation provided by plants could result in incomplete denitrification and increased N<sub>2</sub>O production, as it was observed in conventional wastewater treatment plants (Czepiel et al. 1995). Increased oxygenation could also lower CH<sub>4</sub> emissions by inhibiting methanogenesis. To our knowledge, the effects of artificial aeration on GHG fluxes in CWs have only been tested in a pilot study, with lower fluxes of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> in aerated conditions and varying results for N<sub>2</sub>O depending on plant species (Maltais-Landry 2008 Chapter 2). Seasonal changes also affect GHG fluxes, by stimulating higher bacterial activity and GHG fluxes in summer (Inamori et al. 2007), and modifying the contribution of each GHG to GWP (Søvik et al. 2006).

Similarly to using GWP to obtain a global evaluation of GHG production, the global effects of key factors can be determined by evaluating simultaneously how these factors affect multiple aspects of CWs functioning, nutrient export and GHG production for example. Given that an appropriate experimental setup is used, evaluating the global effects

directly may be done using multivariate analyses rather than inadequately summing the individual effects of these key factors on a specific variable.

The objective of this study was to identify the effects of three species of macrophytes (*Phragmites australis*, *Typha angustifolia*, *Phalaris arundinacea*) and artificial aeration on the variation of GHG production over three different seasons. Nutrient export, and physical, chemical and hydraulic variables were measured simultaneously to obtain a global evaluation of these factors on CWs. We report results obtained in a mesocosm experiment with replicated units for each treatment, allowing for the identification of the individual and combined effects of these factors.

#### 4.3 Materials and methods

##### 4.3.1 Experimental system

We used fourteen horizontal subsurface flow CW mesocosms (length: 1.25 m, width: 0.8 m, height: 0.3 m) located in a controlled greenhouse environment, at the Montreal Botanical Gardens, Montreal, Québec, Canada. Details of the mesocosm design are illustrated in Figure 1.4 (see details in Maltais-Landry 2008 Chapter 3). Briefly, reconstituted fish farm effluent (Total N = 19.4 mg L<sup>-1</sup>, DON = 12.7 mg L<sup>-1</sup>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = 2.0 mg L<sup>-1</sup>, N-NO<sub>y</sub> = 0.3 mg L<sup>-1</sup>)\* was delivered from a refrigerated bulk tank to the mesocosm units at a rate of 60 L m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> using peristaltic pumps. Water was heated to ambient temperature prior to delivery. Of the fourteen experimental mesocosms, six were artificially aerated. Aeration was achieved with a diaphragm air pump (General hydroponics Inc., Model AP-0025B) that diffused air continuously (2 ± 1 L min<sup>-1</sup>) near the bottom of the inlet in a horizontal, 20 cm diameter circle of tubing (Ø 10 mm). The aerated

---

\* N-NO<sub>y</sub> stands for the sum of N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> in this manuscript.

section of the mesocosms was located before the first piezometer and consisted of roughly a quarter of the mesocosms' surface (~ 0.24 m<sup>2</sup>). Of the six aerated mesocosms, two were planted with *Phragmites australis*, two were planted with *Typha angustifolia*, and two were left unplanted. Of the eight non-aerated mesocosms, two were planted with *P. australis*, two were planted with *T. angustifolia*, two were planted with *P. arundinacea*, and two were left unplanted. The wetlands were constructed and planted in May 2002 (Ouellet-Plamondon et al., 2006). However, two units planted with *P. australis* (one aerated and one non-aerated) had to be partly replanted in April 2006 due to high mortality in the winter of 2005-2006.

The experimental setup was maintained in semi-controlled temperatures following a seasonal trend during the experiment (May to December 2006). Winter air temperatures were maintained slightly above 5°C to prevent the experimental setup from freezing. Although ambient air temperatures were warmer in our experimental setup than typical winter temperatures in temperate climates, our winter water temperatures were similar to those observed in full-scale CWs insulated by snow cover with warm inlet wastewater. The greenhouse was shaded from mid-November to simulate the light attenuation caused by a snow cover.

#### 4.3.2 Gas sampling methods

Samples were collected for the measurements of several biogenic gases and the partial pressure was determined using headspace equilibration at ambient temperature (Richey et al. 1988, see details in Maltais-Landry 2008 Chapter 2). Equilibrations were carried out in water collected from both the front and the back piezometers, and each equilibration provided triplicate subsamples of headspace gas. A previous study made in this system reported that gas fluxes do not have a significant diurnal variation (Maltais-

Landry 2008 Chapter 2). Hence, gas measurements were always made between 9 AM and noon, on ten sampling dates from July 5<sup>th</sup> to December 21<sup>st</sup> 2006, to identify a seasonal pattern in gas flux. Ambient air concentrations were taken at each sampling time and were used to correct for the introduction of ambient air inside the bottles.

Samples were analyzed by gas chromatography. For N<sub>2</sub>O measurements, we used an ECD detector on a Shimadzu GC-2014 with a Tekmar 7050 autosampler and a Poropak Q (80/100) column to separate gases, and N<sub>2</sub> as the carrier gas (40 mL min<sup>-1</sup>). A TCD detector measured CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> simultaneously within the vials.

We used the model of Cole and Caraco (1998) to calculate gas fluxes. Details of the calculations are given in equation 1, 2 and 3 (Maltais-Landry 2008 Chapter 2). In this experiment, piston velocity was measured using a closed chamber in our experimental setup. We found average  $k_{600}$  values of 0.1 in the front of aerated units, 0.08 in the front of non-aerated units, and 0.05 in the back of all units.

#### *4.3.3 Carbon dioxide equivalents calculations*

To allow for a global evaluation of GHG production in CWs, fluxes of all gases were converted into CO<sub>2</sub> equivalents to determine the GWP of each unit, using the calculation factors provided by the IPCC (2001). Briefly, fluxes of N<sub>2</sub>O were multiplied by 296 and fluxes of CH<sub>4</sub> were multiplied by 23, and these CO<sub>2</sub> equivalents fluxes were then added to CO<sub>2</sub> fluxes to obtain the GWP for a given CW.

#### *4.3.4 Water sampling methods and mass balance calculations*

Water samples for chemical analyses were taken between 9 AM and noon on the 10 sampling dates when gas fluxes were monitored. Water samples were taken from the two refrigerated tanks and integrated samples were taken at the outlet of each mesocosm after



the 24 hours of the feeding schedule. We measured total phosphorus (TP), total N (TN), chemical oxygen demand (COD), total suspended solids measurements (TSS), DOC,  $\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$  ( $\text{N-NO}_y$  for the rest of the document),  $\text{N-NH}_4^+$ , and total dissolved N (TDN) measurements (see Maltais-Landry 2008 Chapter 3 for details). Total P was measured using the molybdenum blue method (Stainton et al. 1977) on a Astoria analyzer (method # A050), after autoclaving 50 mL samples with 0.5 g of potassium persulfate for 1 h at 120 °C. Chemical oxygen demand was measured by the closed reflux colorimetric method (method # 5220 D) and TSS were measured using the total suspended solids dried at 103-105°C method after filtration on Whatman 934-AH filters (method # 2540 D), according to Standard methods (APHA et al. 2005). Temperature, pH and redox potential were measured using a YSI multi-probe (YSI model 556) in the piezometers on each sampling date.

Total daily pollutant export (in  $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ) was calculated using the following equation:

$$Ex = Ed * Ec \quad (1)$$

where  $Ex$  = mass exported by the unit ( $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ),  $Ed$  = discharge rate ( $\text{L m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ),  $Ec$  = effluent concentration ( $\text{g L}^{-1}$ ).

Total daily pollutant mass removal (in  $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ) was calculated using the following equation:

$$M = Id * Ic - Ed * Ec \quad (2)$$

where  $M$  = mass removal,  $I_d$  = inlet discharge rate ( $L\ m^{-2}\ d^{-1}$ ),  $I_c$  = inlet concentration ( $g\ L^{-1}$ ),  $E_d$  = effluent discharge rate ( $L\ m^{-2}\ d^{-1}$ ),  $E_c$  = effluent concentration ( $g\ L^{-1}$ ).

#### 4.3.5 Hydraulic retention time distribution

Hydraulic retention time distribution (HRT) was measured by tracer tests. In each mesocosm, 15 L of tracer ( $0.4\ g\ Br^{-1}\ L^{-1}$ ) were injected over a period of 5 minutes and outlet concentrations were measured for a period of seven days. Evapotranspiration (ETP) was estimated as the difference between inflow and outflow. Outlet concentrations coupled with ETP estimations were used to draw normalised E-curves and HRT was determined as the centre of gravity of the E-curves according to Levenspiel (1972). Other hydraulic properties were also estimated using the plug flow with axial dispersion model (PFD): the dispersion number ( $D$ ), and the proportion of dead volumes in each unit. The PFD model was preferred to the classical plug flow model to include the effect of plants on dispersion inside the units (Rousseau et al. 2004).

#### 4.3.6 Statistical analyses

We used analyses of variance (ANOVAs) followed by tests of comparison of means (Tukey HSD) to test the effect of artificial aeration, species of macrophytes, and season on GHG production (three way ANOVAs). Because our experimental design was not balanced (*P. arundinacea* had no aerated treatment), two sets of analyses were used. The first set included the aerated and non-aerated units of the macrophytes that had aerated treatments only (*P. arundinacea* excluded), and the results from the ANOVA and the Tukey's tests are both reported in the results. The second set included only non-aerated units from all macrophytes (*P. arundinacea* included), and the results from the ANOVA are

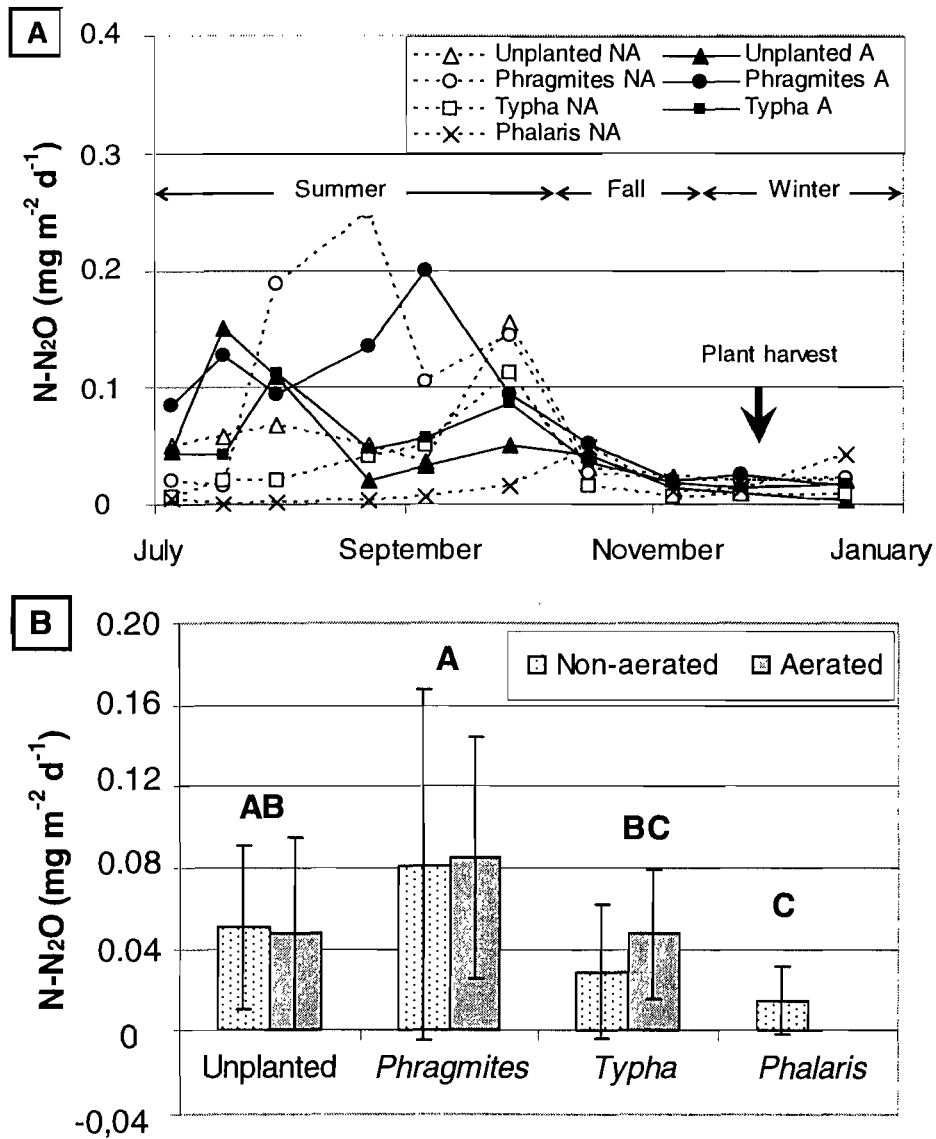
not reported, although the results from the Tukey's test are presented in the relationship among macrophytes in non-aerated units. Most of the variables met normality assumptions and had homogeneous variance. We used the Box-Cox method to normalize the data when necessary (Legendre and Legendre 1998). ANOVAs were performed using SPSS version 16.0 software (SPSS, Inc., Chicago), and were considered significant at the 0.05 level.

Redundancy analysis (RDA) was used to test the effects of artificial aeration, species of macrophytes and temperature on the global efficiency of CWs, using all the variables we had monitored. Interaction vectors between treatments were included in the RDA but excluded from the ordination plot for clarity. All the variables used in RDA that did not meet normality assumptions were transformed for the analysis using the Box-Cox method (Legendre and Legendre 1998). We excluded units planted with *P. arundinacea* because they lacked aerated conditions and including them would have biased the RDA. The RDA was performed using Canoco version 4.5 (Ter braak and Smilauer, 1997).

#### 4.4 Results

##### 4.4.1 GHG fluxes

Fluxes of N<sub>2</sub>O were variable throughout the experiment, with higher mean flux and greater variability during the summer compared to fall and winter, and a general seasonal peak occurring at the end of the summer/beginning of fall (Figure 4.1a, Table VII). Species of macrophytes had a significant impact on N<sub>2</sub>O fluxes (F = 8.2, df = 2, p<0.001) although the differences among macrophyte treatments were variable. In general, units planted with *P. australis* had the highest fluxes and those planted with *P. arundinacea* had the lowest (Figure 4.1a, b). Artificial aeration apparently increased N<sub>2</sub>O fluxes (F = 4.3, df = 1, p<0.05), but this seemed to be driven primarily by CWs planted with *T. angustifolia*.

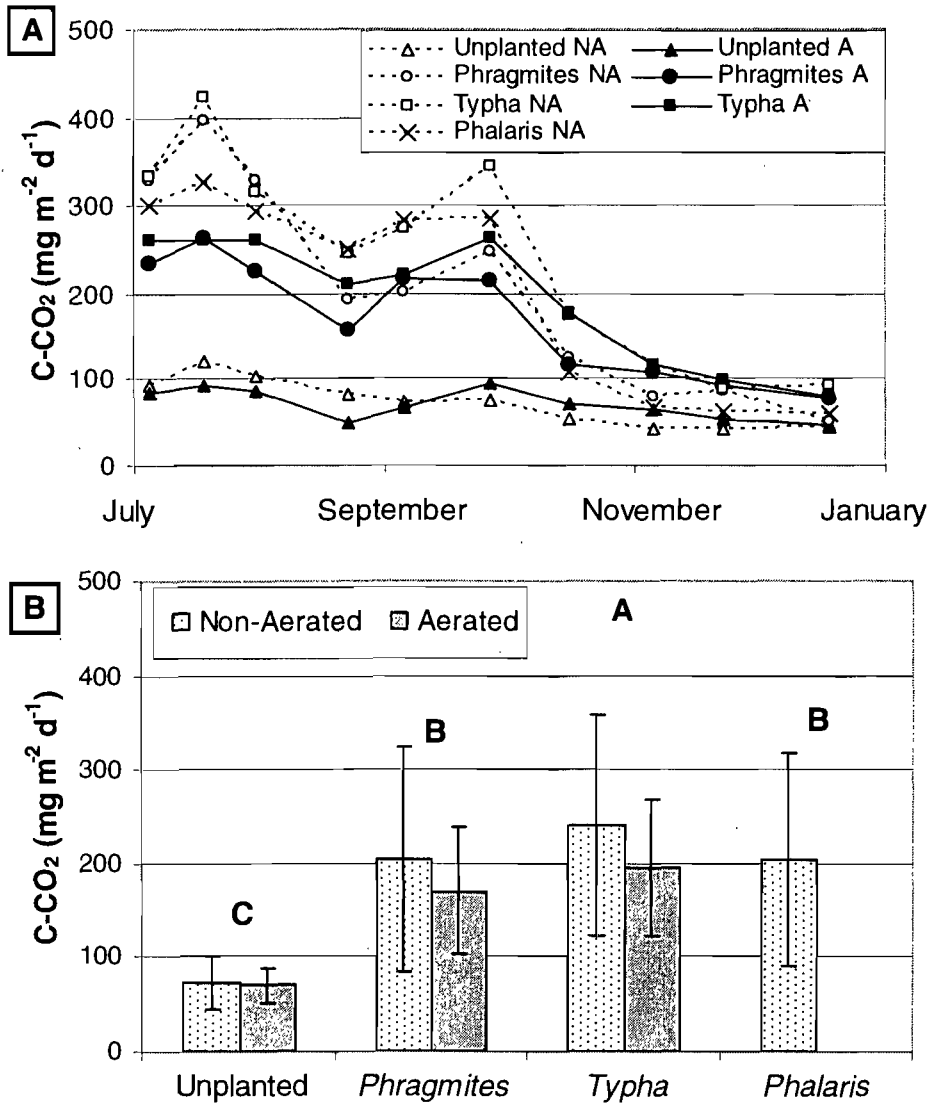


**Figure 4.1:** A) Fluxes of N-N<sub>2</sub>O according to time and B) average N-N<sub>2</sub>O fluxes among treatments. In (A): A = aerated, and NA = non-aerated. Capital letters in (B) denote significant differences among macrophyte treatments using a Tukey test regardless the presence or absence of aeration. Error bars are standard deviation (SD) of the mean calculated over the 10 sampling dates.

**Table VII:** ANOVA statistics for the effects of season on GHG fluxes among treatments, with degrees of freedom (df), statistical signification (sig.) and results from the Tukey HSD tests. Only statistically significant results ( $p < 0.05$ ) are shown. Signification: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ .

Variable	Term	ANOVA			Tukey's HSD						
		F	df	Sig							
N <sub>2</sub> O	Season	10.0	2	***	Summer	A					
					Fall	AB					
					Winter	B					
CO <sub>2</sub>	Macrophyte X Season	4.0	4	**	Planted	Summer	A	Unplanted	Summer	A	
					Fall/winter	B	Fall/winter	A			
CH <sub>4</sub>	Macrophyte X Season	2.8	4	*	Summer	Typha	B	Fall/winter	Typha	A	
					Phragmites/Phal	B	Phragmites/Phal	A			
					Unplanted	A	Unplanted	A			

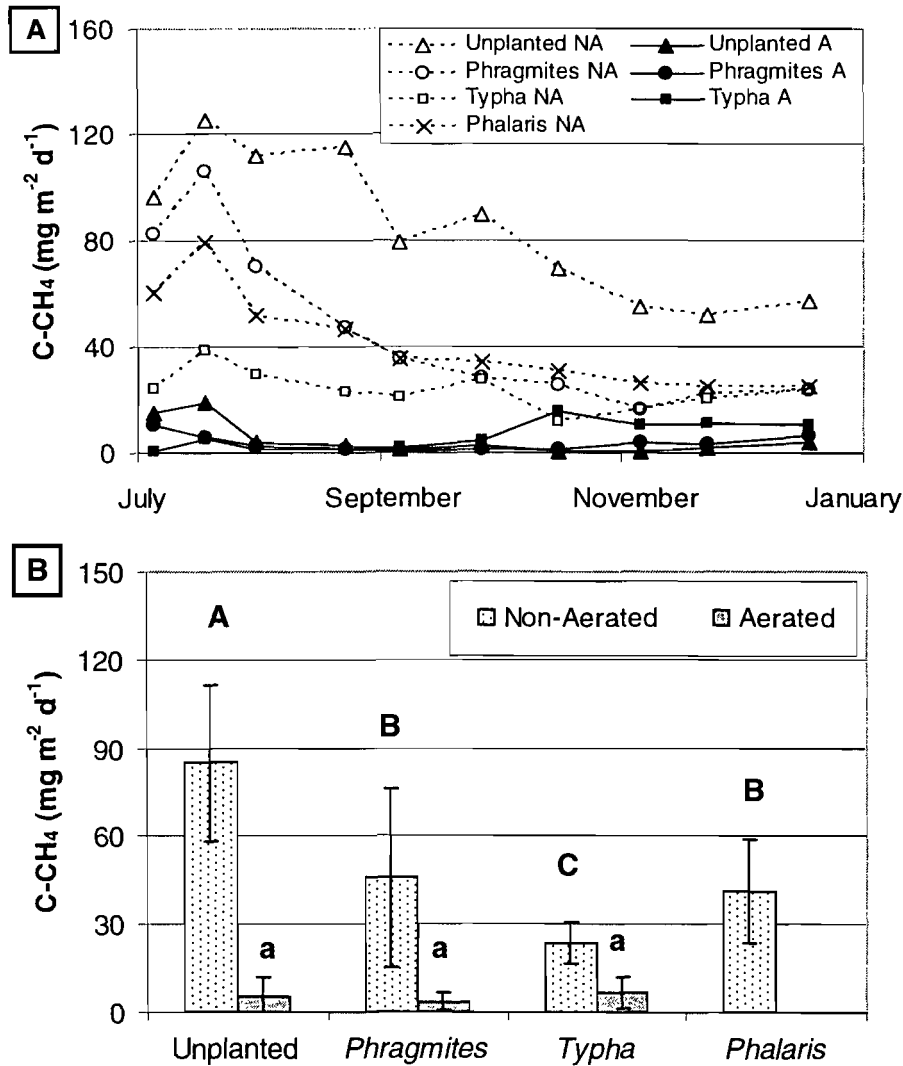
Fluxes of CO<sub>2</sub> varied seasonally in planted units with higher fluxes during the summer compared to fall and winter, while fluxes in unplanted units remained stable (Figure 4.2a, Table VII). The impact of macrophyte treatment on CO<sub>2</sub> fluxes was much clearer than for N<sub>2</sub>O fluxes ( $F = 108.0$ ,  $df = 2$ ,  $p < 0.001$ ): *T. angustifolia* had the highest flux, followed by *P. australis* and *P. arundinacea*, and unplanted units had the lowest fluxes (Figure 4.2b). Aerated units had lower fluxes in planted treatments, but the trend was not statistically significant (Figure 4.2b).



**Figure 4.2:** A) Fluxes of C-CO<sub>2</sub> according to time and B) average C-CO<sub>2</sub> fluxes among treatments. See Figure 4.1 for details on letter interpretation.

Methane fluxes did not exhibit a statistically significant seasonal pattern, although fluxes seemed higher during the summer for non-aerated units (Figure 4.3a). Artificial aeration significantly reduced fluxes for all macrophyte treatments ( $F = 369.3$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.001$ ) (Figure 4.3b). Fluxes of CH<sub>4</sub> varied among macrophyte treatment ( $F = 13.3$ ,  $df = 2$ ,  $p < 0.001$ ), a pattern affected by both season (Table VII) and artificial aeration (macrophytes-aeration interaction:  $F = 16.7$ ,  $df = 2$ ,  $p < 0.001$ ). All macrophyte treatments

had similar fluxes in aerated units, whereas macrophyte treatments differed in non-aerated units: unplanted had the highest fluxes, followed by *P. australis* and *P. arundinacea*, and *T. angustifolia* had the lowest fluxes (Figure 4.3b). Planted units had lower  $\text{CH}_4$  fluxes compared to unplanted units during the summer, but macrophyte treatments were not statistically different during fall and winter (Figure 4.3a, Table VII).

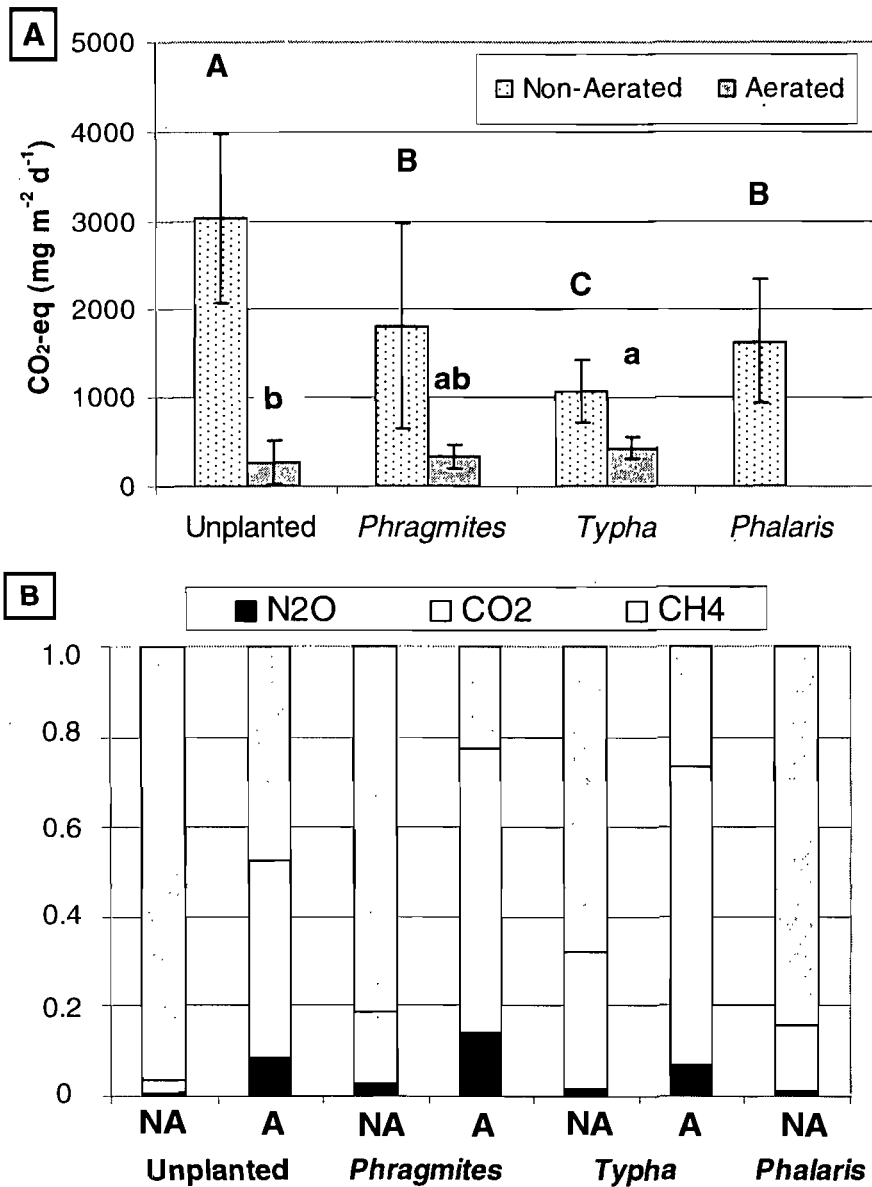


**Figure 4.3:** A) Fluxes of C-CH<sub>4</sub> according to time and B) average C-CH<sub>4</sub> fluxes among treatments. In (A): A = aerated, and NA = non-aerated. Capital letters in (B) denote significant differences among macrophyte treatments using a Tukey test in non-aerated conditions whereas lower case letters denote a significant difference between plant treatments in aerated conditions.

#### 4.4.2 Carbon dioxide equivalents

The pattern obtained among treatments for CO<sub>2</sub> equivalents fluxes was driven primarily by CH<sub>4</sub> fluxes (Figure 4.3b, 4.4a). Aerated units had lower fluxes than non-aerated ones ( $F = 341.9$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.001$ ), and artificial aeration modified the relationship among macrophyte treatments (macrophytes-aeration interaction:  $F = 40.1$ ,  $df = 2$ ,  $p < 0.001$ ). Non-aerated units followed the same pattern as for CH<sub>4</sub> fluxes (unplanted > *P. australis* ≈ *P. arundinacea* > *T. angustifolia*) but the pattern was reversed in aerated units: *T. angustifolia* had the highest fluxes and unplanted had the lowest fluxes (Figure 4.4a). We also observed a shift in the main contribution to GWP from CH<sub>4</sub> in non-aerated units (70%-97%) to CO<sub>2</sub> in planted aerated units (62%-65%) (Figure 4.4b). Nitrous oxide was always a minor component of CO<sub>2</sub> equivalent calculations, accounting for less than 15% of the GWP, regardless of treatment.



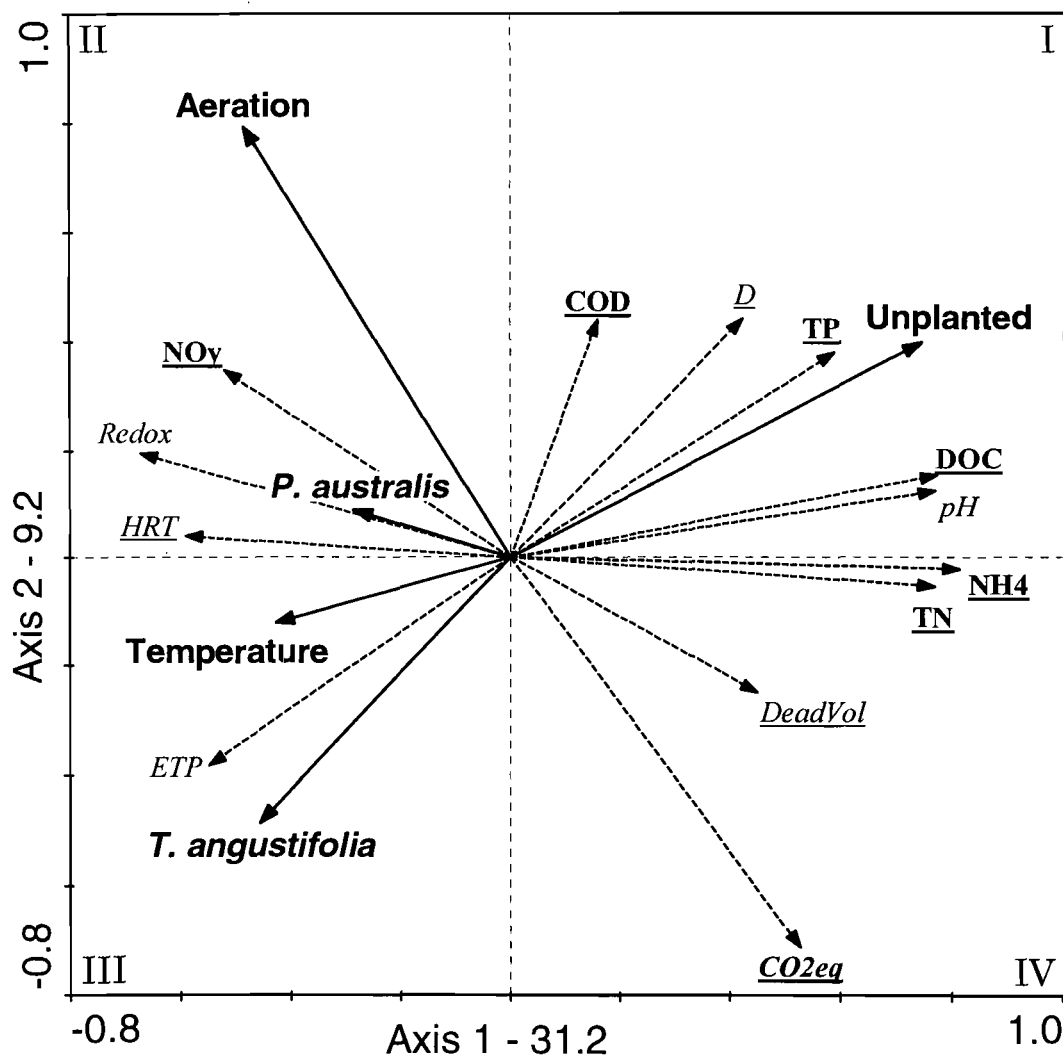


**Figure 4.4:** A) Average fluxes of CO<sub>2</sub> equivalents among treatments and B) Proportion of CO<sub>2</sub> equivalents (means, on a percentage basis) as N<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, and CH<sub>4</sub> among wetland treatments. In (B): A = aerated and NA = non-aerated. See Figure 4.3 for details on letter interpretation.

#### 4.4.3 Effects of treatments on multiple variables using RDA

The global effect of artificial aeration, macrophyte treatments and temperature (used as a surrogate for season) was tested using RDA on 16 response variables (Figure 4.5). The

various treatments had a good predictive power, explaining 53.7% of the variation in the data, with the first two axes of the RDA explaining 31.2% and 9.2%, respectively (Figure 4.5). Most variables were well represented in the ordination plot, with the exception of DON, PN, and TSS which were poorly represented in the reduced space of the RDA and excluded from Figure 4.5.



**Figure 4.5:** Redundancy analysis of 13 variables (dotted lines) according to wetland treatments and temperature (full lines). Only variables that are well represented in the reduced space are shown (PN, DON, TSS not shown): bold underlined variables = nutrient export, bold underlined italic variables = GHG, underlined italic variables = hydraulic properties, and italic variables = physical and chemical properties.

Unplanted units had high export of most nutrients (with the exception of  $\text{NO}_y$ ), high fluxes of  $\text{CO}_2$  equivalents, negative redox conditions, and poor hydraulic properties, with low HRT and ETP, and high dispersion (D) and dead volumes (Figure 4.5). Units planted with *P. australis* had the highest redox potentials, good hydraulic properties, low export of N species, and low fluxes of  $\text{CO}_2$  equivalents, but high export of  $\text{NO}_y$  (Figure 4.5). The effect of *T. angustifolia*'s presence was similar to that of *P. australis*, with the exception of higher ETP and lower  $\text{NO}_y$  export with *T. angustifolia* (Figure 4.5). The effect of high temperatures was similar to that of macrophyte presence (figure 4.5). Aerated conditions lead to higher redox conditions, lower export of nutrients, with the exception of  $\text{NO}_y$ , and lower  $\text{CO}_2$  equivalent fluxes (Figure 4.5).

#### 4.5 Discussion

With the exception of flow type (Søvik et al. 2006), the effects of key factors on GHG production in CWs remain poorly understood, despite the potentially significant impact they could have. This study is one of the few to investigate simultaneously the effect of three macrophytes species (*P. australis*, *T. angustifolia*, *P. arundinacea*) and presence of artificial aeration across three seasons on the production of  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$ , and  $\text{CH}_4$  from CWs. As these factors may affect conditions controlling GHG production, evaluating their individual and combined effects improves our understanding of the processes underlying GHG production and increases our ability to choose the most favourable operating conditions for CWs.

The inhibition of methanogenesis and reduction of  $\text{CH}_4$  fluxes in more oxygenated conditions or at lower temperatures has been reported in previous studies (Johansson et al.

2004, Stadmark and Leonardson 2005). However, the effect of different macrophyte species on CH<sub>4</sub> fluxes remains debated, because of potentially differing oxygen transfer capacities for different plant species. We found that in non-aerated units, unplanted conditions had higher fluxes than planted units, confirming the findings of Grünfeld and Brix (1999) in subsurface flow conditions. However, Wild et al. (2001) and Ström et al. (2007) found that plant presence lead to higher CH<sub>4</sub> fluxes in surface flow CWs, suggesting that a significant interaction probably exists between flow type and plant presence. Among the species we studied, *T. angustifolia* had the lowest fluxes, consistent with observations previously reported (Johansson et al. 2004, Ström et al. 2007). This suggests that oxygen transfer capacity among plant treatments varies. This is supported somewhat indirectly by the similar CH<sub>4</sub> fluxes observed among plant species under aerated conditions as compared to the more variable fluxes among plant species found in non-aerated treatments. Furthermore, the sharp reduction in CH<sub>4</sub> fluxes observed in aerated conditions suggests a bigger contribution of artificial aeration to lower CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>-equivalent fluxes than plant presence. This illustrates that oxygen availability remains limited in planted systems despite oxygen delivery by plants, which was further corroborated by the stimulation of N removal observed with artificial aeration in planted units (Maltais-Landry 2008 Chapter 3).

Unlike CH<sub>4</sub>, artificial aeration did not have a clear effect on N<sub>2</sub>O fluxes, except in units planted with *T. angustifolia* where artificial aeration apparently stimulated N<sub>2</sub>O production, probably via incomplete denitrification. However, this drawback of artificial aeration is relatively unimportant as compared to the amount of N processed by CWs as ratios of N-N<sub>2</sub>O to TN removal were below 0.1% in all treatments and N<sub>2</sub>O had a small contribution to GWP. These observations confirm preliminary findings made in this system (Maltais-Landry 2008 Chapter 2), supporting the hypothesis of differential oxygen delivery among plants species affecting the interaction between plants and artificial aeration. Fluxes

of N<sub>2</sub>O were lower in units planted with *T. angustifolia* or *P. arundinacea*, consistent with previous findings (Augustin et al. 2002, Johansson et al. 2003, Rückauf et al. 2004, Ström et al. 2007). This suggests that some species, such as *P. australis*, promote N<sub>2</sub>O production compared to other macrophytes. However, the effect of plant presence remains debated, as lower (Wild et al. 2001, Johansson et al. 2003) or higher (Rückauf et al. 2004, Wang et al. 2008) N<sub>2</sub>O fluxes were reported in planted CWs compared to unplanted controls. This highlights the need to investigate the mechanisms by which plant presence and species impact N<sub>2</sub>O fluxes, as the decrease in fluxes observed during plant senescence suggests a non-negligible effect of plants. Although N<sub>2</sub>O played a minor role in GWP in our study, identifying these mechanisms is crucial as N<sub>2</sub>O fluxes can contribute more to the GWP than what we observed (Søvik et al. 2006, Ström et al. 2007).

Similarly to N<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> emissions were unaffected by artificial aeration. However, plant presence and species had a significant impact, with higher CO<sub>2</sub> fluxes in planted units, especially those planted with *T. angustifolia*. Higher CO<sub>2</sub> fluxes with higher plant biomass (Liikanen et al. 2006) may be a function of the higher bacterial abundance and metabolism in planted CWs (Gagnon et al. 2007) that can be attributed to the supplementary labile carbon provided by plants (Picek et al. 2007). The role of plants in mediating bacterial activity and CO<sub>2</sub> fluxes is illustrated by the seasonal decline observed in fluxes of planted CWs as plants senesce, compared to the constant fluxes in unplanted units. Plants also affect CO<sub>2</sub> emissions by photosynthesis and respiration of aerial parts, and these processes, not measured in this experiment, may seriously impact CO<sub>2</sub> budgets. Indeed, with a carbon content of 41%-47% in aerial tissues and an aboveground biomass of 0.9-2.5 kg dry weight m<sup>-2</sup> yr<sup>-1</sup> (Maltais-Landry 2008 Chapter 3), planted units may have sequestered 2-15 times the carbon they emitted as CO<sub>2</sub>. However, the unaccounted respiration of stems/leaves could reduce the extent of this carbon sequestration, as fluxes taking into account this

respiration in other CWs are higher than our fluxes (Teiter and Mander 2005, Liikanen et al. 2006). Hence, the delicate task of calculating precise CO<sub>2</sub> budgets when plants are present remains to be done exhaustively in CWs.

The difference between our CO<sub>2</sub> fluxes and those measured with chambers in other studies highlights the need to interpret our results on the effects of plants with caution. We chose the headspace equilibration method because it allowed us to have the exhaustive sampling effort necessary to test our hypotheses in our experimental design, which was not feasible with chambers. The trade-off to this methodological choice was a poor representation of a few but potentially important plant metabolic paths, such as aerial respiration for CO<sub>2</sub>. However, as our N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> fluxes were well within the range of reported fluxes (Stadmark and Leonardson 2005, Inamori et al. 2007, Picek et al. 2007), we feel that the results we present for these two gases, including the effects of plants, are quite robust.

In all the combinations of treatment we studied and in all seasonal conditions, N<sub>2</sub>O had a minor contribution to the GWP. Methane contributed the most to the GWP in non-aerated units, but CO<sub>2</sub> was the most important GHG in aerated units, highlighting that oxygen availability to the wetland matrix is a major factor controlling GHG production. This was observed in a previous study (Maltais-Landry 2008 Chapter 2) and is supported by the RDA analysis. Different plant species did not affect the relative contribution of each GHG to the GWP, but influenced the absolute fluxes of individual GHGs and CO<sub>2</sub> equivalents. This suggests that plants play an important role in controlling GHG, although less important than artificial aeration, and confirms the need to select plants based on their global performance rather than nutrient removal or GHG production alone.

Indeed, quantifying the global impact of different plant species or artificial aeration is difficult when trying to combine several individual effects, a situation exacerbated when

taking into account other variables such as nutrient export. Using a multivariate statistical tool, RDA, we were able to obtain a global evaluation of the effects of treatments. We found that the most desirable properties, found in quadrants II and III, occurred within the same treatments, resulting in low GHG production, low nutrient export, and good hydraulic properties, i.e. high HRT and ETP and low dispersion and proportion of dead volumes. Artificial aeration, used primarily to stimulate N removal, had desirable effects in terms of hydraulic properties, export of other nutrients, and speciation of N, while it had the greatest impact in reducing GHG fluxes. Although their impact was weaker than that of artificial aeration, plants had desirable global effects, especially in non-aerated conditions where they reduced GHG emissions by half, reduced nutrient export and enhanced N speciation (Maltais-Landry 2008 Chapter 3). The RDA confirms that the differentiation between planted and unplanted conditions is greater than among species of macrophytes, but that species choice does matter.

By providing a visual summary of the global effects of key factors on the functioning of CWs, multivariate analyses provide a useful tool for choosing operating conditions for a CW. As the surface area of these ecosystems and natural wetlands is respectively increasing and decreasing, weighing the trade-offs between the increased areal nutrient removal and the increased GHG production of CWs is critical. Indeed, the two to ten-fold increase in GHG production per unit area found in CWs compared to natural wetlands (Martikainen et al. 1993, Paludan and Blicher-Mathiesen 1996, Huang et al. 2005) suggests that these two types of wetlands have a radically different behavior. They should be treated separately in global nutrient and GHG budgets to allow for a comprehensive evaluation of the consequences of changes in the relative surface area covered by these two types of ecosystems.

#### 4.6 Conclusion

We found that GHG fluxes were higher in unplanted units, in non-aerated units and during the summer. The addition of artificial aeration reduced CH<sub>4</sub> fluxes and CO<sub>2</sub>-equivalents, and induced a shift from CH<sub>4</sub> to CO<sub>2</sub> as the main contributor to the GWP of CW units. Nitrous oxide had a minor contribution, less than 15%, to GWP in all treatments. Units planted with *T. angustifolia* had a smaller GWP than units planted with *P. australis* or *P. arundinacea*, but the pattern among species varied depending on GHG monitored and aerated conditions. Planted units and aerated units had the most desirable global performances, with low nutrient export and desirable hydraulic properties in addition to a lower GWP. This confirms that combining planted and aerated conditions is optimal, although the identification of all the mechanisms underlying this improved performance remains largely speculative. More research is needed to better evaluate the impacts of different macrophyte species under different nutrient regimes and to see if other means to improve redox conditions that are more extensive and less expensive than artificial aeration also yield similar beneficial results.

#### 4.7 Acknowledgements

We are thankful to Y. Foucard for sampling assistance and mesocosm maintenance, N. Boulanger-Lapointe, M.-P. Gauthier, G. Morin-Dion, D. Nguyen, and L. Tall for sampling assistance, M. Bouffard, A. Lauzé and C. Beauchemin for nutrient analyses, V. Gagnon for kindly providing Figure 1.4, J. Cole and Y. Prairie for discussions. This research was funded by the Natural Sciences and Engineering Research Council (NSERC) of Canada student scholarship to GML, an NSERC Discovery grant and an FQRNT



Strategic professor grant to RM and a NSERC Strategic grant to JB. This study is a contribution to the *Groupe de recherche interuniversitaire en limnologie* (GRIL).

## CHAPITRE 5 : Conclusion générale

### 5.1 Retour sur les objectifs

Cette étude avait pour objectif de mettre en évidence les effets individuels et synergiques de trois facteurs clés sur le cycle de l'azote et la production de GES des marais filtrants artificiels : la présence et l'espèce de plantes, la présence d'aération artificielle, et la saison.

L'oxygénation accrue observée en présence d'aération artificielle et de plantes a permis une meilleure épuration de l'azote et spéciation des effluents de sortie ( $\text{NO}_y$  vs.  $\text{NH}_4^+$ ), probablement à cause d'une stimulation de la nitrification et de la dénitrification. Ces conditions plus oxygénées ont également permis une réduction des flux de GES, en faisant baisser la production de  $\text{CH}_4$  et sa contribution aux émissions globales.

Parmi les espèces étudiées, *T. angustifolia* semble être la plus appropriée pour le recyclage de l'azote et la réduction des émissions de GES. La différence entre *T. angustifolia* et *P. australis* doit être interprétée prudemment à cause des difficultés qu'a connues cette dernière espèce et de certaines contradictions entre les années. Par ailleurs, si la différenciation entre espèces végétales est généralement attribuée à la capacité d'oxygéner le substrat, cette étude démontre qu'elle peut également être attribuée à d'autres voies telles que l'augmentation du temps de résidence hydraulique.

La baisse de la température a fait chuter l'épuration d'azote et les flux de GES, probablement à cause d'un ralentissement métabolique bactérien. Les marais plantés ont été plus affectés, illustrant indirectement l'importance de la contribution des plantes.

Par l'analyse des variables et facteurs pris séparément et par leur analyse simultanée, cette étude a confirmé que les marais aérés et plantés permettent une épuration maximale de plusieurs nutriments, des émissions minimales de GES et une amélioration des propriétés hydrauliques.

## 5.2 Directions futures

Bien que les objectifs de cette étude aient été majoritairement atteints, de nombreuses questions demeurent sans réponse et constituent autant de chemins à explorer lors de futures recherches.

En premier lieu, la confirmation en conditions réelles des résultats obtenus en milieu contrôlé demeure à faire. Un hiver réel et plus rigoureux pourrait amener une chute plus drastique des processus biologiques que celle observée, affecter la différenciation entre espèces végétales, et mener à une utilisation variable de l'aération artificielle selon la saison. Le fort effet de dilution associé à la fonte de neige et les différences observées pour la croissance printanière entre différentes plantes pourraient, quant à eux, affecter sérieusement les performances printanières. Enfin, si les difficultés encourues par *P. australis* (pucerons, mortalité hivernale) sont indicatrices d'une réelle faiblesse au niveau de la survie, il faudra alors songer à éviter cette espèce dans le futur.

Du point de vue méthodologique, le développement d'une méthode de mesure de la dénitrification directe et peu coûteuse et de modèles de flux de gaz conçus spécifiquement pour les marais filtrants sont des aspects cruciaux. En effet, une meilleure évaluation de la contribution de la dénitrification à l'épuration d'azote permettrait un meilleur dimensionnement des marais filtrants et le prolongement de leur vie utile. Par ailleurs, un modèle de flux de GES propre aux marais filtrants permettrait d'intégrer la contribution aux émissions de GES des macrophytes, du type de substrat, du type d'écoulement, etc. De telles innovations permettront une meilleure compréhension du fonctionnement de ces systèmes et surtout une évaluation plus adéquate de leur réelle empreinte environnementale.

Du point de vue opérationnel, l'évaluation d'espèces végétales supplémentaires et la sélection d'espèces à faible risque d'envahissement des milieux naturels représentent une nécessité. De même, l'utilisation de plantes dont la biomasse serait valorisable

économiquement pourrait justifier la récolte des végétaux à grande échelle, ce qui rentabiliserait l'opération de ces systèmes tout en stimulant l'épuration. La diversification des aménagements pour stimuler l'oxygénation de façon extensive ou une rationalisation de l'utilisation de l'aération artificielle, la nuit et l'hiver par exemple, permettrait également de diminuer les coûts d'opération de tels systèmes sans trop affecter leurs performances épuratoires.

Enfin, bien que les marais filtrants aient surtout des effets positifs, la plus grande efficacité observée pour l'azote pourrait ternir ce tableau. En effet, cette efficacité pourrait déséquilibrer le ratio N:P dans les cours d'eaux récepteurs et exacerber certains problèmes (e. g. effloraisons de cyanobactéries) rencontrés dans les cours d'eau québécois. L'étude de l'effet de marais filtrants sur la biologie des milieux récepteurs constitue ainsi une étape nécessaire avant l'implantation de tels systèmes à grande échelle.

## Références

- American public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Environment Federation (WEF), 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Augustin, J., Münchmeyer, U., Russow, R., 2002. N<sub>2</sub>O and N<sub>2</sub> fluxes from reflooded fen peatlands with and without wetland plants in lab model experiments. In: Ü. Mander, P.D. Jenssen (Eds), Advances in ecological sciences: Natural wetlands for wastewater treatment in cold climates, Vol. 12, WIT press, Southampton, Boston (USA), pp. 127-137.
- Bachand, P.A.M., Horne, A.J., 2000. Denitrification in constructed free-water surface wetlands: I. Very high nitrate removal rates in a macrocosm study. Ecol. Eng. 14, 9-15.
- Bastviken, S.K., Eriksson, P.G., Premrov, A., Tonderski, K., 2005. Potential denitrification in wetland sediments with different plant species detritus. Ecol. Eng. 25, 183-190.
- Bezbaruah, A.N., Zhang, T.C., 2003. Performance of a constructed wetland with a sulfur/limestone denitrification section for wastewater nitrogen removal. Environ. Sci. Technol. 37, 1690-1697.
- Brisson, J., Chazarenc, F., Sous presse. Maximizing pollutant removal in constructed wetlands: should we pay more attention to macrophyte species selection? Sci. Total Environ.
- Brix, H., 1994. Functions of Macrophytes in Constructed Wetlands. Water Sci. Technol. 29, 71-78.
- Brix, H., 1997. Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands? Water Sci. Technol. 35, 11-17.
- Brix, H., Sorrell, B.K., Lorenzen, B., 2001. Are *Phragmites*-dominated wetlands a net source or net sink of greenhouse gases? Aquat. Bot. 69, 313-324.

- Chazarenc, F., Maltais-Landry, G., Troesch, S., Comeau, Y., Brisson, J., 2007. Effect of loading rate on performance of constructed wetlands treating an anaerobic supernatant. *Water Sci. Technol.* 56, 23-29.
- Codispoti, L.A., Yoshinari, T., Devol, A.H., 2005. Suboxic respiration in the oceanic water column. In: P.A. del Giorgio, P.J.B. Williams (Eds), *Respiration in aquatic ecosystems*, Oxford university press, New York, pp. 225-247.
- Cole, J.J., Caraco, N.F., 1998. Atmospheric exchange of carbon dioxide in a low-wind oligotrophic lake measured by the addition of SF<sub>6</sub>. *Limnol. Oceanogr.* 43, 647-656.
- Cole, J.J., Caraco, N.F., 2001. Emissions of nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) from a tidal, freshwater river, the Hudson River, New York. *Environ. Sci. Technol.* 35, 991-996.
- Comeau, Y., Brisson, J., Reville, J.P., Forget, C., Drizo, A., 2001. Phosphorus removal from trout farm effluents by constructed wetlands. *Water Sci. Technol.* 44, 55-60.
- Cottingham, P.D., Davies, T.H., Hart, B.T., 1999. Aeration to promote nitrification in constructed wetlands. *Environ. Technol.* 20, 69-75.
- CRC Handbook of Chemistry and Physics, 1995. CRC Press, Inc, Boca Raton, FL (USA), 2450 pp.
- Czepiel, P., Crill, P., Harriss, R., 1995. Nitrous Oxide Emissions from Municipal Wastewater Treatment. *Environ. Sci. Technol.* 29, 2352-2356.
- D'Elia, C.F., Steudler, P., Corwin, N., 1977. Determination of total nitrogen in aqueous samples using persulfate digestion. *Limnol. Oceanogr.* 22, 760-764.
- Davies, T.H., Bart, B.T., 1990. Use of aeration to promote nitrification in reed beds treating wastewater. In: P.F. Cooper, B.C. Findlater (Eds), *Constructed Wetlands in Water Pollution Control*, Pergamon Press, Oxford, pp. 383-389.
- Dong, Z.Q., Sun, T.H., 2007. A potential new process for improving nitrogen removal in constructed wetlands - Promoting coexistence of partial-nitrification and ANAMMOX. *Ecol. Eng.* 31, 69-78.

- Drizo, A. 1998. Phosphate and ammonium removal from wastewater using constructed wetlands systems. Ph. D. thesis, Faculty of Science and Engineering, University of Edinburgh, Edinburgh, U.K.
- Fenchel, T., Blackburn, T.H., 1979. Bacteria and mineral cycling. Academic Press, London, 236 pp.
- Fenchel, T., King, G.M., Blackburn, H., 1998. Bacterial Biogeochemistry: the Ecophysiology of Mineral Cycling. Academic Press, London, 307 pp.
- Fey, A., Benckiser, G., Ottow, J.C.G., 1999. Emissions of nitrous oxide from a constructed wetland using a groundfilter and macrophytes in waste-water purification of a dairy farm. Biol. Fertil. Soils 29, 354-359.
- Firestone, M.K., Davidson, E.A., 1989. Microbial basis of NO and N<sub>2</sub>O production and consumption in soil. In: M.O. Andreae, D.S. Schimel (Eds), Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere, John Wiley and Sons, Berlin, pp. 7-21.
- Freeman, C., Lock, M.A., Hughes, S., Reynolds, B., Hudson, J.A., 1997. Nitrous oxide emissions and the use of wetlands for water quality amelioration. Environ. Sci. Technol. 31, 2438-2440.
- Gagnon, V., Chazarenc, F., Comeau, Y., Brisson, J., 2007. Influence of macrophyte species on microbial density and activity in constructed wetlands. Water Sci. Technol. 56, 249-254.
- Grünfeld, S., Brix, H., 1999. Methanogenesis and methane emissions: effects of water table, substrate type and presence of *Phragmites australis*. Aquat. Bot. 64, 63-75.
- Gui, P., Xu, K., Mizuochi, M., Inamori, R., Tai, P., Sun, T., Inamori, Y., 2000. The emissions of greenhouse gases from constructed wetland for wastewater treatment. In: I. publishing (Ed), 7th International conference on wetland systems for water pollution control, IWA publishing, Lake Buena vista, Florida (USA), pp. 277-285.
- Higgins, J.P., 2003. The use of engineered wetlands to treat recalcitrant wastewaters. In: Ü. Mander, P.D. Jenssen (Eds), Advances in ecological sciences : Constructed wetlands for wastewater treatment in cold climates, Vol. 11, WIT Press, Southampton, UK, pp. 137-159.

- Huang, G.H., Li, X.Z., Hu, Y.M., Shi, Y., Xiao, D.N., 2005. Methane (CH<sub>4</sub>) emission from a natural wetland of Northern China. *J. Environ. Sci. Heal. A* 40, 1227-1238.
- Inamori, R., Gui, P., Dass, P., Matsumura, M., Xu, K.Q., Kondo, T., Ebie, Y., Inamori, Y., 2007. Investigating CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O emissions from eco-engineering wastewater treatment processes using constructed wetland microcosms. *Process Biochem.* 42, 363-373.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (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.* Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Jahne, B., Munnich, K.O., Bosinger, R., Dutzi, A., Huber, W., Libner, P., 1987. On the Parameters Influencing Air-Water Gas-Exchange. *J. Geophys. Res.-Oceans* 92, 1937-1949.
- Johansson, A.E., Gustavsson, A.M., Öquist, M.G., Svensson, B.H., 2004. Methane emissions from a constructed wetland treating wastewater - seasonal and spatial distribution and dependence on edaphic factors. *Water Res.* 38, 3960-3970.
- Johansson, A.E., Klemetsson, A.K., Klemetsson, L., Svensson, B.H., 2003. Nitrous oxide exchanges with the atmosphere of a constructed wetland treating wastewater - Parameters and implications for emission factors. *Tellus B* 55, 737-750.
- Kadlec, R.H., Knight, R.L., 1996. *Treatment Wetlands.* Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, 928 pp.
- Kadlec, R.H., Tanner, C.C., Hally, V.M., Gibbs, M.M., 2005. Nitrogen spiraling in subsurface-flow constructed wetlands: Implications for treatment response. *Ecol. Eng.* 25, 365-381.
- Knowles, R., 1982. Denitrification. *Microbiol. Rev.* 46, 43-70.
- Kowalchuk, G.A., Stephen, J.R., 2001. Ammonia-oxidizing bacteria: A model for molecular microbial ecology. *Annu. Rev. Microbiol.* 55, 485-529.
- Kusch, P., Wiessner, A., Kappelmeyer, U., Weissbrodt, E., Kastner, M., Stottmeister, U., 2003. Annual cycle of nitrogen removal by a pilot-scale subsurface horizontal flow in a constructed wetland under moderate climate. *Water Res.* 37, 4236-4242.



- Legendre, P., Legendre, L., 1998. Numerical ecology. Elsevier BV, Amsterdam, 870 pp.
- Levenspiel, O., 1972. Chemical reaction engineering. John Wiley and Sons, New York, 600 pp.
- Liikanen, A., Huttunen, J.T., Karjalainen, S.M., Heikkinen, K., Vaisanen, T.S., Nykanen, H., Martikainen, P.J., 2006. Temporal and seasonal changes in greenhouse gas emissions from a constructed wetland purifying peat mining runoff waters. *Ecol. Eng.* 26, 241-251.
- Lin, Y.F., Jing, S.R., Wang, T.W., Lee, D.Y., 2002. Effects of macrophytes and external carbon sources on nitrate removal from groundwater in constructed wetlands. *Environ. Pollut.* 119, 413-420.
- Liu, W.X., Dahab, M.F., Surampalli, R.Y., 2005. Nitrogen transformations modeling in subsurface-flow constructed wetlands. *Water Environ. Res.* 77, 246-258.
- Lund, L.J., Horne, A.J., Williams, A.E., 2000. Estimating denitrification in a large constructed wetland using stable nitrogen isotope ratios. *Ecol. Eng.* 14, 67-76.
- Maehlum, T., Stålnacke, P., 1999. Removal efficiency of three cold-climate constructed wetlands treating domestic wastewater: Effects of temperature, seasons, loading rates and input concentrations. *Water Sci. Technol.* 40, 273-281.
- Maltais-Landry, G., Chazarenc, F., Comeau, Y., Troesch, S., Brisson, J., 2007. Effects of artificial aeration, macrophyte species and loading rate on removal efficiency in constructed wetland mesocosms treating fish farm wastewater. *J. Environ. Eng. Sci.* 6, 409-414.
- Maltais-Landry, G., 2008. Le cycle de l'azote de marais filtrants artificiels: potentiel d'émission de gaz à effet de serre (GES) et exportation de formes azotées. Thèse de M. Sc., Faculté des Études Supérieures, Université de Montréal, Montréal.
- Mander, Ü., Kuusemets, V., Lohmus, K., Muring, T., Teiter, S., Augustin, J., 2003. Nitrous oxide, dinitrogen and methane emission in a subsurface flow constructed wetland. *Water Sci. Technol.* 48, 135-142.

- Mander, Ü., Lohmus, K., Teiter, S., Nurk, K., Muring, T., Augustin, A., 2005. Gaseous fluxes from subsurface flow constructed wetlands for wastewater treatment. *J. Environ. Sci. Heal. A* 40, 1215-1226.
- Martikainen, P.J., Nykanen, H., Crill, P., Silvola, J., 1993. Effect of a Lowered Water-Table on Nitrous-Oxide Fluxes from Northern Peatlands. *Nature* 366, 51-53.
- Matthews, C.J.D., St Louis, V.L., Hesslein, R.H., 2003. Comparison of three techniques used to measure diffusive gas exchange from sheltered aquatic surfaces. *Environ. Sci. Technol.* 37, 772-780.
- Mitsch, W.J., Zhang, L., Anderson, C.J., Altor, A.E., Hernandez, M.E., 2005. Creating riverine wetlands: Ecological succession, nutrient retention, and pulsing effects. *Ecol. Eng.* 25, 510-527.
- Mørkved, P.T., Søvik, A.K., Kløve, B., Bakken, L.R., 2005. Removal of nitrogen in different wetland filter materials: use of stable nitrogen isotopes to determine factors controlling denitrification and DNRA. *Water Sci. Technol.* 51, 63-71.
- Mulholland, P.J., Helton, A.M., Poole, G.C., Hall, R.O., Hamilton, S.K., Peterson, B.J., Tank, J.L., Ashkenas, L.R., Cooper, L.W., Dahm, C.N., Dodds, W.K., Findlay, S.E.G., Gregory, S.V., Grimm, N.B., Johnson, S.L., McDowell, W.H., Meyer, J.L., Valett, H.M., Webster, J.R., Arango, C.P., Beaulieu, J.J., Bernot, M.J., Burgin, A.J., Crenshaw, C.L., Johnson, L.T., Niederlehner, B.R., O'Brien, J.M., Potter, J.D., Sheibley, R.W., Sobota, D.J., Thomas, S.M., 2008. Stream denitrification across biomes and its response to anthropogenic nitrate loading. *Nature* 452, 202-U246.
- Neubauer, S.C., Givler, K., Valentine, S.K., Megonigal, J.P., 2005. Seasonal patterns and plant-mediated controls of subsurface wetland biogeochemistry. *Ecology* 86, 3334-3344.
- Ouellet-Plamondon, C., 2004. Effet de l'aération d'appoint, de la saison et de l'espèce de macrophytes dans le traitement d'un effluent piscicole par marais artificiel. Thèse de M. Sc., Faculté des Études Supérieures, Université de Montréal, Montréal.

- Ouellet-Plamondon, C., Chazarenc, F., Comeau, Y., Brisson, J., 2006. Artificial aeration to increase pollutant removal efficiency of constructed wetlands in cold climate. *Ecol. Eng.* 27, 258-264.
- Paludan, C., Blicher-Mathiesen, G., 1996. Losses of inorganic carbon and nitrous oxide from a temperate freshwater wetland in relation to nitrate loading. *Biogeochemistry* 35, 305-326.
- Picek, T., Cizkova, H., Dusek, J., 2007. Greenhouse gas emissions from a constructed wetland - Plants as important sources of carbon. *Ecol. Eng.* 31, 98-106.
- Poe, A.C., Pichler, M.F., Thompson, S.P., Paerl, H.W., 2003. Denitrification in a constructed wetland receiving agricultural runoff. *Wetlands* 23, 817-826.
- Richey, J.E., Devol, A.H., Wofsy, S.C., Victoria, R., Riberio, M.N.G., 1988. Biogenic Gases And The Oxidation And Reduction Of Carbon In Amazon River And Floodplain Waters. *Limnol. Oceanogr.* 33, 551-561.
- Rousseau, D.P.L., Vanrolleghem, P.A., De Pauw, N., 2004. Model-based design of horizontal subsurface flow constructed treatment wetlands: a review. *Water Res.* 38, 1484-1493.
- Rückauf, U., Augustin, J., Russow, R., Merbach, W., 2004. Nitrate removal from drained and reflooded fen soils affected by soil N transformation processes and plant uptake. *Soil Biol. Biochem.* 36, 77-90.
- Saunders, D.L., Kalff, J., 2001. Nitrogen retention in wetlands, lakes and rivers. *Hydrobiologia* 443, 205-212.
- Seitzinger, S.P., Kroeze, C., Styles, R.V., 2000. Global distribution of N<sub>2</sub>O emissions from aquatic systems: natural emissions and anthropogenic effects. *Chemosphere - Global Change Science* 2, 267-279.
- Sekiguchi, Y., Kamagata, Y., Syutsubo, K., Ohashi, A., Harada, H., Nakamura, K., 1998. Phylogenetic diversity of mesophilic and thermophilic granular sludges determined by 16S rRNA gene analysis. *Microbiology* 144, 2655-2665.

- Silvan, N., Tuittila, E.S., Kitunen, V., Vasander, H., Laine, J., 2005. Nitrate uptake by *Eriophorum vaginatum* controls N<sub>2</sub>O production in a restored peatland. *Soil Biol. Biochem.* 37, 1519-1526.
- Silvan, N., Vasander, H., Karsisto, M., Laine, J., 2003. Microbial immobilisation of added nitrogen and phosphorus in constructed wetland buffer. *Appl. Soil Ecol.* 24, 143-149.
- Smith, C.J., DeLaune, R.D., Patrick, W.H., 1983. Nitrous oxide emission from Gulf Coast wetlands. *Geochim. Cosmochim. Ac.* 47, 1805-1814.
- Smith, L.K., Sartoris, J.J., Thullen, J.S., Andersen, D.C., 2000. Investigation of denitrification rates in an ammonia-dominated constructed wastewater-treatment wetland. *Wetlands* 20, 684-696.
- Smith, M.S., Tiedje, J.M., 1979. Phases Of Denitrification Following Oxygen Depletion. *Soil. Soil Biol. Biochem.* 11, 261-267.
- Søvik, A.K., Augustin, J., Heikkinen, K., Huttunen, J.T., Necki, J.M., Karjalainen, S.M., Kløve, B., Liikanen, A., Mander, Ü., Puustinen, M., Teiter, S., Wachniew, P., 2006. Emission of the greenhouse gases nitrous oxide and methane from constructed wetlands in Europe. *J. Environ. Qual.* 35, 2360-2373.
- Søvik, A.K., Kløve, B., 2007. Emission of N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> from a constructed wetland in southeastern Norway. *Sci. Total Environ.* 380, 28-37.
- Søvik, A.K., Mørkved, P.T., 2008. Use of stable nitrogen isotope fractionation to estimate denitrification in small constructed wetlands treating agricultural runoff. *Sci. Total Environ.* 392, 157-165.
- Spieles, D.J., Mitsch, W.J., 2000. The effects of season and hydrologic and chemical loading on nitrate retention in constructed wetlands: a comparison of low- and high-nutrient riverine systems. *Ecol. Eng.* 14, 77-91.
- Stadmark, J., Leonardson, L., 2005. Emissions of greenhouse gases from ponds constructed for nitrogen removal. *Ecol. Eng.* 25, 542-551.

- Stainton, M.P., Capel, M.J., Armstrong, F.A.J., 1977. The chemical analysis of fresh water. 2<sup>nd</sup> ed., Can. Fish. Mar. Serv. Misc. Spec. Publ. 25, 1-166.
- Stein, O.R., Hook, P.B., 2005. Temperature, plants, and oxygen: How does season affect constructed wetland performance? *J. Environ. Sci. Heal. A* 40, 1331-1342.
- Stottmeister, U., Wiessner, A., Kusch, P., Kappelmeyer, U., Kastner, M., Bederski, O., Muller, R.A., Moormann, H., 2003. Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotechnol. Adv.* 22, 93-117.
- Ström, L., Lamppa, A., Christensen, T.R., 2007. Greenhouse gas emissions from a constructed wetland in southern Sweden. *Wetlands Ecology and Management* 15, 43-50.
- Tai, P.D., Li, P.J., Sun, T.H., He, Y.W., Zhou, Q.X., Gong, Z.Q., Mizuochi, M., Inamori, Y.H., 2002. Greenhouse gas emissions from a constructed wetland for municipal sewage treatment. *J. Environ. Sci.-China* 14, 27-33.
- Tanner, C.C., 1996. Plants for constructed wetland treatment systems - A comparison of the growth and nutrient uptake of eight emergent species. *Ecol. Eng.* 7, 59-83.
- Tanner, C.C., Kadlec, R.H., 2003. Oxygen flux implications of observed nitrogen removal rates in subsurface-flow treatment wetlands. *Water Sci. Technol.* 48, 191-198.
- Tanner, C.C., Kadlec, R.H., Gibbs, M.M., Sukias, J.P.S., Nguyen, M.L., 2002. Nitrogen processing gradients in subsurface-flow treatment wetlands - influence of wastewater characteristics. *Ecol. Eng.* 18, 499-520.
- Teiter, S., Mander, Ü., 2005. Emission of N<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, and CO<sub>2</sub> from constructed wetlands for wastewater treatment and from riparian buffer zones. *Ecol. Eng.* 25, 528-541.
- Troussellier, M., Legendre, P., Baleux, B., 1986. Modeling of the Evolution of Bacterial Densities in an Eutrophic Ecosystem (Sewage Lagoons). *Microbial Ecol.* 12, 355-379.
- Vymazal, J (Ed), 2005. Natural and constructed wetlands: nutrients, metals and management. Backhuys publishers, Leiden, Netherlands, pp. 420.

- Wang, Y., Inamori, R., Kong, H., Xu, K., Inamori, Y., Kondo, T., Zhang, J., 2008. Nitrous oxide emission from polyculture constructed wetlands: Effect of plant species. *Environ. Pollut.* 152, 351-360.
- Weller, D.E., Jordan, T.E., Correll, D.L., 1998. Heuristic models for material discharge from landscapes with riparian buffers. *Ecol. Appl.* 8, 1156-1169.
- Werker, A.G., Dougherty, J.M., McHenry, J.L., Van Loon, W.A., 2002. Treatment variability for wetland wastewater treatment design in cold climates. *Ecol. Eng.* 19, 1-11.
- Wild, U., Kamp, T., Lenz, A., Heinz, S., Pfadenhaeur, J., 2001. Cultivation of *Typha* spp. in constructed wetlands for peatland restoration. *Ecol. Eng.* 17, 49-54.
- Xue, Y., Kovacic, D.A., David, M.B., Gentry, L.E., Mulvaney, R.L., Lindau, C.W., 1999. In situ measurements of denitrification in constructed wetlands. *J. Environ. Qual.* 28, 263-269.
- Yu, K.W., Struwe, S., Kjoller, A., Chen, G.X., 2008. Denitrification rate determined by nitrate disappearance is higher than determined by nitrous oxide production with acetylene blockage. *Ecol. Eng.* 32, 90-96.
- Zhu, N.W., An, P., Krishnakumar, B., Zhao, L., Sun, L.W., Mizuochi, M., Inamori, Y., 2007. Effect of plant harvest on methane emission from two constructed wetlands designed for the treatment of wastewater. *J. Environ. Manage.* 85, 936-943.
- Zumft, W.G., 1997. Cell biology and molecular basis of denitrification. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61, 533-616.

## Annexes

### Annexe 1 : Résultats bruts

#### Données brutes – Nutriments

Les échantillons en entrée sont des échantillons intégrés de 24h et ceux en sortie sont des échantillons instantanés. Les valeurs pour les formes d'azote ne comprennent que l'azote (e. g. N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> et non pas NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). L'effluent 15 alimente les marais 1 à 4 et 8 à 10 inclusivement, l'effluent 16 alimente les autres, avec un débit d'entrée de 60 L m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>. Le 7 novembre, tous les marais ont été alimentés à l'aide de l'effluent 16.

#	Marais		Date	Analyses PMV						Analyses IRBV						
	Plantes	Air		COD	TN	TDN	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>y</sub>	DON	TP	MES	MVS	DCOt	DCOs	PO <sub>4</sub>	ETP
				mg/L						mg/L						L
1	Typha	0	05-07	3,77	6,81	6,93	6,34	0,05	0,54	1,4	1,2	12	3	0,2	46	
2	Typha	1	05-07	3,39	1,03	1,79	0,35	0,72	0,72	0,6	1,0	17	1	0,2	48	
3	Non planté	0	05-07	4,34	13,75	12,51	12,33	0,03	0,15	2,8	1,6	13	86	1,3	57	
4	Phragmites	1	05-07	3,81	0,62	1,41	0,35	0,08	0,98	6,2	2,2	9	8	0,4	51	
5	Phalaris	0	05-07	4,34	11,64	10,89	10,25	0,06	0,58	1,8	2,0	8	9	1,1	53	
6	Phragmites	0	05-07	3,69	7,36	7,17	6,51	0,06	0,60	4,8	2,2	32	8	0,7	53	
7	Non planté	1	05-07	4,02	10,20	9,66	9,21	0,10	0,35	1,2	1,6	10	9	1,6	60	
8	Non planté	1	05-07	5,47	11,31	10,31	9,47	0,10	0,75	0,2	1,2	22	34	1,4	58	
9	Phalaris	0	05-07	6,26	10,57	9,67	8,60	0,06	1,01	1,2	1,6	14	12	0,8	54	
10	Phragmites	0	05-07	4,40	10,48	10,02	9,12	0,15	0,75	3,4	2,0	5	12	1,0	54	
11	Typha	1	05-07	5,66	2,30	2,95	1,13	0,98	0,85	0,4	1,0	13	4	0,7	50	
12	Non planté	0	05-07	22,08	13,16	12,14	11,99	0,16	0,00	1,2	1,6	14	19	1,5	56	
13	Typha	0	05-07	14,33	7,16	7,10	6,08	0,07	0,96	6,4	3,2	1	0	0,3	49	
14	Phragmites	1	05-07	4,11	2,25	2,86	0,52	0,98	1,35	5,0	1,2	1	3	0,5	55	
15	Effluent		05-07	18,01	16,94	16,03	1,56	0,39	14,08	60,0	47,0	110	40	0,6		
16	Effluent		05-07	15,85	16,42	15,38	1,91	0,38	13,09	65,0	49,7	102	46	0,7		
1	Typha	0	18-07	3,66	7,62	7,39	5,99	0,05	1,35	0,6	0,8	11	15	0,73	42	
2	Typha	1	18-07	3,54	1,81	1,90	0,35	0,77	0,79	0,0	0,4	14	18	0,32	46	
3	Non planté	0	18-07	3,33	15,61	14,57	12,42	0,01	2,14	0,0	1,4	17	12	1,69	56	
4	Phragmites	1	18-07	3,05	1,12	1,01	0,17	0,19	0,65	1,0	1,0	14	27	0,26	44	
5	Phalaris	0	18-07	5,11	12,00	11,36	9,29	0,07	1,99	1,8	1,6	24	16	1,14	51	
6	Phragmites	0	18-07	4,30	8,11	7,57	5,99	0,25	1,33	3,4	2,0	20	23	0,62	55	
7	Non planté	1	18-07	3,97	9,63	8,99	6,95	0,35	1,69	1,4	2,2	13	20	2,66	58	
8	Non planté	1	18-07	3,65	12,22	11,53	9,90	0,03	1,59	1,4	1,6	18	28	2,37	58	
9	Phalaris	0	18-07	3,87	12,49	11,44	10,07	0,02	1,35	1,2	1,2	15	22	1,13	51	
10	Phragmites	0	18-07	4,61	10,56	9,86	8,60	0,12	1,14	4,4	2,6	14	20	1,02	55	
11	Typha	1	18-07	3,81	2,66	2,50	1,39	0,14	0,97	1,9	1,2	11	16	1,47	46	
12	Non planté	0	18-07	3,60	14,06	13,30	10,94	0,16	2,19	1,0	1,2	17	13	2,05	56	
13	Typha	0	18-07	5,14	3,01	2,85	1,74	0,19	0,92	1,8	2,3	12	20	0,26	42	
14	Phragmites	1	18-07	3,29	0,97	0,92	0,09	0,09	0,74	1,6	0,8	20	19	0,71	44	
15	Effluent		18-07	12,90	21,59	16,11	1,48	0,33	14,30	89,2	79,6	77	46	0,80		
16	Effluent		18-07	12,95	21,36	17,12	0,43	0,31	16,37	71,2	58,4	81	34	0,45		
1	Typha	0	31-07	3,71	6,67	6,77	5,57	0,04	1,17	0,27	1,6	1,6	17	6	0,18	36
2	Typha	1	31-07	3,65	1,58	2,26	0,06	1,07	1,13	0,19	0,4	0,8	16	6	0,13	41
3	Non planté	0	31-07	4,28	13,44	12,91	1,15	0,03	11,73	1,02	0,6	1,0	8	7	1,47	54

4	Phragmites	1	31-07	3,06	1,76	2,61	0,03	1,52	1,06	0,16	0,0	0,6	10	10	0,80	42
5	Phalaris	0	31-07	3,78	11,62	11,26	10,30	0,07	0,90	0,69	0,6	0,6	9	9	0,94	46,5
6	Phragmites	0	31-07	9,92	10,79	10,07	7,86	1,85	0,37	0,36	1,8	1,2	4	7	0,40	45,5
7	Non planté	1	31-07	3,26	8,77	8,61	3,86	3,93	0,82	0,43	0,8	1,0	14	3	0,55	57
8	Non planté	1	31-07	3,50	10,69	10,10	10,18	0,05	0,00	0,90	0,8	1,0	19	12	1,46	56
9	Phalaris	0	31-07	7,36	11,55	10,96	10,39	0,07	0,50	0,60	0,8	1,0	20	15	0,81	48,5
10	Phragmites	0	31-07	3,36	11,12	10,73	9,52	0,41	0,80	0,71	2,6	1,4	15	3	0,78	50
11	Typha	1	31-07	3,27	4,32	4,84	2,69	0,94	1,21	0,71	1,6	0,8	7	3	0,81	43,5
12	Non planté	0	31-07	3,35	12,52	11,47	11,17	0,11	0,19	1,30	0,8	1,2	6	13	1,64	57
13	Typha	0	31-07	4,05	5,42	5,63	4,65	0,17	0,81	0,23	1,8	1,2	23	2	0,18	36
14	Phragmites	1	31-07	3,69	2,89	3,40	0,13	2,14	1,13	0,19	0,6	0,8	17	6	0,23	51
15	Effluent		31-07	16,31	18,75	15,68	1,72	0,27	13,69	1,42	67,2	57,6	92	18	0,34	
16	Effluent		31-07	10,21	18,55	14,00	3,37	0,21	10,42	1,55	88,9	75,7	114	49	0,05	
1	Typha	0	23-08	3,08	5,18	5,85	4,52	0,05	1,28		1,4	1,0	22	11	0,12	42,5
2	Typha	1	23-08	2,38	2,62	2,90	0,00	1,81	1,09		0,0	0,4	20	8	0,32	44
3	Non planté	0	23-08	2,75	12,80	13,44	12,59	0,04	0,80		0,0	0,4	15	7	1,48	45
4	Phragmites	1	23-08	2,57	9,16	10,13	0,52	7,86	1,75		0,0	0,0	12	11	0,62	49
5	Phalaris	0	23-08	4,68	10,06	10,26	8,34	0,07	1,85		0,0	3,2	22	15	1,10	47
6	Phragmites	0	23-08	2,88	12,55	12,98	5,65	6,10	1,24		0,0	0,0	8	17	0,50	50
7	Non planté	1	23-08	2,78	8,48	8,42	1,91	5,25	1,25		0,0	0,2	11	20	0,34	58
8	Non planté	1	23-08	2,75	9,38	10,17	8,69	0,14	1,34		0,0	0,0	13	10	1,08	57
9	Phalaris	0	23-08	3,10	12,05	11,96	10,34	0,11	1,52		0,0	0,0	12	15	0,76	48
10	Phragmites	0	23-08	3,02	11,55	11,46	8,51	1,63	1,32		0,6	0,6	27	13	6,94	54
11	Typha	1	23-08	2,76	4,83	4,76	1,56	2,05	1,15		0,0	0,0	12	13	0,57	44
12	Non planté	0	23-08	2,93	12,77	12,54	10,16	0,20	2,17		0,2	0,2	5	19	1,52	58
13	Typha	0	23-08	3,05	5,26	5,07	3,39	0,30	1,39		0,2	0,0	19	8	0,22	40
14	Phragmites	1	23-08	2,79	10,92	10,71	0,09	9,28	1,34		0,0	0,0	17	25	0,29	53
15	Effluent		23-08	9,66	20,09	15,54	1,74	0,19	13,62		72,7	54,7	136	19	0,44	
16	Effluent		23-08	6,46	20,03	15,00	7,73	0,17	7,10		86,0	58,4	110	20	0,15	
1	Typha	0	06-09	2,79	5,20	5,24	4,79	0,08	0,37	0,14	1,0	0,0	20	6	0,07	48
2	Typha	1	06-09	2,42	2,04	1,99	0,00	1,29	0,70	0,08	0,0	0,4	14	12	0,19	47
3	Non planté	0	06-09	3,26	13,58	13,46	13,28	0,10	0,08	0,93	0,0	1,2	16	7	1,60	55
4	Phragmites	1	06-09	2,11	8,83	8,95	0,17	8,09	0,69	0,17	0,0	0,4	24	2	0,35	52
5	Phalaris	0	06-09	3,79	11,83	12,09	11,94	0,09	0,06	0,95	0,0	1,2	13	5	1,51	46
6	Phragmites	0	06-09	3,58	11,41	12,68	7,75	4,85	0,08	0,91	0,0	0,4	15	4	1,42	51
7	Non planté	1	06-09	2,85	8,23	8,23	1,50	6,07	0,66	0,32	0,0	0,0	25	7	0,62	58
8	Non planté	1	06-09	3,02	10,63	9,27	9,92	0,16	0,00	0,62	0,0	0,8	17	7	1,07	57
9	Phalaris	0	06-09	3,02	11,55	11,87	11,96	0,10	0,00	0,48	1,0	0,2	13	13	0,86	51
10	Phragmites	0	06-09	2,87	9,02	10,97	11,60	0,90	0,00	0,55	0,6	1,2	13	11	0,00	58
11	Typha	1	06-09	2,75	4,29	4,34	2,99	0,63	0,72	0,57	0,0	0,0	14	11	1,05	51
12	Non planté	0	06-09	3,38	13,68	13,58	12,80	0,22	0,56	1,46	2,0	1,2	15	14	2,54	59
13	Typha	0	06-09	3,49	5,60	5,51	4,20	0,70	0,61	0,23	1,2	0,0	14	10	0,59	45
14	Phragmites	1	06-09	2,61	9,70	9,58	0,02	8,86	0,70	0,36	0,0	0,0	12	8	1,19	53
15	Effluent		06-09	19,29	20,85	14,01	1,13	0,21	12,68	1,31	67,6	58,0	31	29	0,86	
16	Effluent		06-09	10,32	20,66	14,63	1,16	0,02	13,45	1,40	77,6	62,4	113	9	0,56	
1	Typha	0	27-09	3,15	6,03	5,70	4,25	0,08	1,37	0,13	1,8	0,8	7		0,02	49
2	Typha	1	27-09	3,23	2,07	2,04	0,06	1,05	0,93	0,14	0,4	0,2	16	0	0,18	48
3	Non planté	0	27-09	3,62	15,94	16,01	12,66	0,06	3,30	1,62	2,0	1,6	19	5	2,05	55,5
4	Phragmites	1	27-09	2,82	8,16	8,28	0,13	6,37	1,78	0,31	1,6	1,8	19	0	0,48	51,5
5	Phalaris	0	27-09	3,24	12,37	12,43	9,81	0,06	2,56	0,79	0,0	0,4	14	4	1,10	49
6	Phragmites	0	27-09	3,84	11,67	11,61	5,56	3,86	2,20	0,69	0,8	1,4	18	6	0,93	55
7	Non planté	1	27-09	2,95	8,12	7,93	2,94	3,49	1,50	0,62	0,8	1,2	15	8	0,91	59



8	Non planté	1	27-09	2,91	10,65	10,28	7,49	0,70	2,09	0,58	0,0	1,6	13	2	0,76	53
9	Phalaris	0	27-09	3,17	13,57	12,99	10,74	0,06	2,19	0,60	2,4	2,0	14	5	0,76	53,5
10	Phragmites	0	27-09	3,22	13,20	13,01	9,27	1,37	2,37	0,80	0,0	0,0	7	4	1,02	55,5
11	Typha	1	27-09	2,74	6,86	6,60	3,56	1,40	1,64	0,47	0,0	0,4	7		0,61	52
12	Non planté	0	27-09	3,14	14,98	13,54	11,31	0,23	2,00	1,51	0,0	0,0	9	5	2,00	58,5
13	Typha	0	27-09	2,41	6,21	5,63	3,19	1,14	1,29	0,10	0,2	0,0	5	2	0,10	47
14	Phragmites	1	27-09	2,47	6,25	5,60	0,17	4,52	0,91	0,54	0,0	0,2	13	2	0,70	54
15	Effluent		27-09	8,50	21,60	14,35	3,84	0,18	10,33	1,51	86,0	60,0	165	2	0,03	
16	Effluent		27-09	8,47	20,27	14,12	2,84	0,17	11,11	1,34	78,4	52,4	132	6	0,02	
1	Typha	0	17-10	2,85	5,37	5,28	4,14	0,68	0,46	0,06	0,2	0,8	23	5	0,71	50,5
2	Typha	1	17-10	2,56	3,35	3,30	0,00	2,92	0,39	0,04	0,0	0,2	24	4	0,51	49
3	Non planté	0	17-10	3,41	14,35	13,92	12,75	0,13	1,04	0,80	1,2	1,6	22	17	1,66	55
4	Phragmites	1	17-10	2,56	8,02	7,76	0,00	6,81	0,95	0,20	0,4	0,6	34	41	0,75	50
5	Phalaris	0	17-10	3,27	12,38	12,21	11,12	0,08	1,00	0,51	0,6	0,6	17	0	1,19	49
6	Phragmites	0	17-10	3,06	10,47	10,20	7,96	1,75	0,49	0,44	1,2	1,0	20	61	1,04	52
7	Non planté	1	17-10	2,90	8,69	8,37	3,49	4,11	0,76	0,41	0,0	0,4	21	0	1,04	58,5
8	Non planté	1	17-10	2,93	6,57	6,36	4,65	1,15	0,56	0,13	0,0	0,8	23	0	0,54	56,5
9	Phalaris	0	17-10	3,32	12,42	11,95	11,41	0,15	0,40	0,43	0,0	0,0	31	0	1,10	52
10	Phragmites	0	17-10	2,99	11,62	11,33	8,80	1,83	0,70	0,35	1,0	0,6	30	0	0,86	55
11	Typha	1	17-10	2,84	7,17	6,93	4,53	1,78	0,61	0,31	0,0	0,8	21	5	0,86	51,5
12	Non planté	0	17-10	3,25	14,53	14,14	12,56	0,47	1,11	0,94	1,2	1,8	29	6	1,88	60
13	Typha	0	17-10	2,91	6,70	6,93	3,81	2,52	0,60	0,05	0,6	0,0	20	1	0,50	47
14	Phragmites	1	17-10	2,79	7,38	7,19	0,00	6,27	0,91	0,26	0,0	0,8	14	14	0,86	51,5
15	Effluent		17-10	11,23	19,70	14,52	1,36	0,30	12,86	1,43	65,6	56,4	159	2	0,57	
16	Effluent		17-10	10,75	19,14	13,68	1,61	0,26	11,81	1,37	62,0	45,2	140	11	0,45	
1	Typha	0	07-11	3,59	5,92	5,79	5,26	0,50	0,03		0,4	0,8	37		0,15	54
2	Typha	1	07-11	3,06	3,35	3,38	0,02	3,23	0,14		0,2	0,8	4		0,10	53
3	Non planté	0	07-11	4,64	14,09	12,80	12,45	0,19	0,16		1,6	1,8	18		1,33	55
4	Phragmites	1	07-11	2,99	6,46	6,56	0,71	5,58	0,27		0,0	0,6	7		0,42	54
5	Phalaris	0	07-11	3,79	11,49	11,02	10,46	0,07	0,49		0,4	0,8	8		0,78	51,5
6	Phragmites	0	07-11	3,40	9,55	8,68	7,51	1,93	0,00		0,8	1,0	7		0,54	54
7	Non planté	1	07-11	3,86	8,94	8,91	7,69	1,13	0,08		2,8	1,6	11		1,77	58,5
8	Non planté	1	07-11	3,35	5,07	4,83	3,00	1,98	0,00		0,0	1,2	19		0,06	57
9	Phalaris	0	07-11	4,16	10,55	10,53	10,43	0,12	0,00		0,4	0,6	13		0,67	55,5
10	Phragmites	0	07-11	3,38	11,35	10,48	8,90	1,45	0,14		1,6	1,2	11		0,64	59
11	Typha	1	07-11	3,34	6,57	6,20	5,01	1,53	0,00		0,0	0,8	18		0,63	56
12	Non planté	0	07-11	4,24	12,94	12,84	11,87	0,43	0,54		0,8	1,2	16		1,20	59
13	Typha	0	07-11	3,05	5,53	5,28	3,48	2,10	0,00		0,0	0,0	5		0,10	52,5
14	Phragmites	1	07-11	2,83	7,56	7,89	0,14	7,84	0,00		0,2	0,2	39		0,55	55
15	Effluent		07-11													
16	Effluent		07-11	25,24	19,51	16,42	1,85	0,28	14,30		75,6	62,4	182		0,76	
1	Typha	0	24-11	4,01	9,04	9,33	7,74	1,20	0,39	0,15	0,6	0,2	10		0,19	58
2	Typha	1	24-11	3,21	5,78	6,09	0,16	6,13	0,00	0,06	0,2	0,2	6		0,09	55
3	Non planté	0	24-11	4,77	13,55	13,13	12,86	0,17	0,10	0,62	0,8	0,6	17		1,19	54
4	Phragmites	1	24-11	3,35	7,66	7,94	2,02	6,48	0,00	0,31	0,0	0,0	6		0,43	53,5
5	Phalaris	0	24-11	4,92	11,62	11,69	11,19	0,11	0,39	0,55	0,4	0,4	17		0,76	50,5
6	Phragmites	0	24-11	3,85	10,44	9,96	7,84	2,35	0,00	0,38	0,4	0,2	6		0,44	54
7	Non planté	1	24-11	4,57	9,66	9,84	8,58	0,56	0,70	0,69	2,6	1,4	30		1,77	60
8	Non planté	1	24-11	4,03	5,16	5,47	3,37	1,32	0,78	0,16	0,0	0,2	13		0,10	57,5
9	Phalaris	0	24-11	5,09	10,76	11,10	10,33	0,28	0,48	0,44	0,4	0,2	12		0,69	55
10	Phragmites	0	24-11	4,53	10,86	10,87	9,29	2,05	0,00	0,25	1,0	0,6	16		0,66	56
11	Typha	1	24-11	4,32	8,16	8,74	5,91	2,46	0,38	0,60	0,0	0,0	9		0,80	57

12	Non planté	0	24-11	6,04	13,66	13,86	12,42	0,32	1,12	0,36	0,6	0,8	27	1,32	59
13	Typha	0	24-11	3,61	8,00	8,27	4,28	3,97	0,03	0,07	0,0	0,0	6	0,12	53
14	Phragmites	1	24-11	3,07	9,85	9,82	0,03	10,57	0,00	0,44	0,0	0,0	6	0,56	53
15	Effluent		24-11	14,60	18,13	11,18	1,30	0,31	9,58	0,75	80,0	67,2	139	0,02	
16	Effluent		24-11	13,95	18,00	14,15	0,79	0,32	13,03	0,74	70,4	58,0	149	0,11	
1	Typha	0	20-12	3,55	12,31	10,09	8,42	1,68	0,00	0,26	0,0	0,4	18	0,31	59,5
2	Typha	1	20-12	3,18	7,22	7,26	2,13	4,93	0,20	0,19	0,0	0,0	11	0,20	57
3	Non planté	0	20-12	3,83	14,95	13,93	13,83	0,22	0,00	0,56	0,8	1,0	25	1,07	53,3
4	Phragmites	1	20-12	3,26	9,95	9,43	5,74	4,37	0,00	0,30	0,0	0,2	16	0,83	56
5	Phalaris	0	20-12	3,59	13,77	13,70	12,17	1,26	0,27	0,43	0,2	0,2	26	0,85	54
6	Phragmites	0	20-12	3,58	12,48	11,74	10,10	1,59	0,06	0,50	0,6	0,6	18	0,73	53,5
7	Non planté	1	20-12	4,88	13,22	13,85	12,36	2,92	0,00	0,63	3,6	1,8	45	3,15	58
8	Non planté	1	20-12	3,83	7,07	6,84	5,20	1,15	0,49	0,45	0,0	0,4	8	0,50	59
9	Phalaris	0	20-12	3,56	13,14	13,41	10,78	1,76	0,87	0,41	0,4	0,6	18	0,44	57
10	Phragmites	0	20-12	3,80	13,34	13,51	11,09	1,12	1,30	0,51	0,0	1,0	12	0,74	58,3
11	Typha	1	20-12	3,59	9,72	9,46	6,08	3,39	0,00	0,59	0,0	0,6	15	0,91	57
12	Non planté	0	20-12	4,13	14,06	13,54	12,39	0,33	0,82	0,60	0,4	0,6	15	1,14	58
13	Typha	0	20-12	3,14	9,05	8,74	5,04	4,10	0,00	0,21	0,0	0,0	6	0,19	55,3
14	Phragmites	1	20-12	3,37	7,79	6,91	5,02	2,72	0,00	0,50	0,0	0,0	26	1,14	56
15	Effluent		20-12	10,83	19,11	16,05	1,56	0,34	14,15	0,67	64,4	54,8	150	0,75	
16	Effluent		20-12	10,65	18,81	15,75	1,31	0,38	14,05	0,75	60,4	50,4	161	0,63	

*Données brutes -- Physico-chimie de l'eau*

Les mesures ont été prises en même temps que les gaz et les analyses de nutriments, soit entre 9h et midi. Les mesures ont été prises dans les piézomètres situés à l'avant et à l'arrière des marais. Il n'y a pas de mesure pour le 18 juillet car l'instrument n'était pas disponible.

#	Marais			Température		Conductivité		O <sub>2</sub>		pH		Redox	
	plante	Air	Date	Av	Arr	Av	Arr	Av	Arr	Av	Arr	Av	Arr
				°C		mS/cm		mg/L				mV	
1	Typha	0	05-07	17,38	21,78	270	205	0,45	0,48	7,58	6,42	-159,5	-178,4
2	Typha	1	05-07	18,6	21,66	212	190	1,22	0,55	6,83	6,4	-21,9	-128,3
3	Non planté	0	05-07	19,07	21,88	274	286	0,33	0,2	7,5	7,23	-226,4	-273,4
4	Phragmites	1	05-07	19,92	21,99	229	209	0,35	0,47	6,86	6,4	-143,9	-118,7
5	Phalaris	0	05-07	20,35	21,93	266	257	0,58	0,44	6,86	6,77	-227,8	-210,1
6	Phragmites	0	05-07	20,17	21,88	259	246	0,52	0,41	6,67	6,63	-234,1	-163
7	Non planté	1	05-07	19,06	21,46	250	263	0,84	0,41	7,14	7,34	-118,3	-166,2
8	Non planté	1	05-07	19,18	21,4	270	274	0,27	0,4	7,45	7,33	-204,1	-242,4
9	Phalaris	0	05-07	19,87	21,12	268	266	4,82	0,34	6,71	6,76	-227,6	-243,2
10	Phragmites	0	05-07	20,32	21,78	284	284	0,36	0,17	6,97	6,91	-231,4	-224,3
11	Typha	1	05-07	18,96	21,6	221	217	2,3	0,3	6,89	6,66	-61,9	-149,4
12	Non planté	0	05-07	17,83	22,12	284	291	0,25	0,23	7,3	7,25	-242,5	-221,9
13	Typha	0	05-07	20,35	22,16	245	227	0,5	0,46	6,67	6,49	-208,9	-167,3
14	Phragmites	1	05-07	20,85	21,96	227	230	4,51	0,38	7,21	6,73	22,1	-107,5
1	Typha	0	31-07	17,41	21,68	200	165	0,69	0,58	7,23	6,46	-92,8	-154,9
2	Typha	1	31-07	18,31	21,4	161	147	0,88	0,53	6,83	6,47	-26,5	-116,3
3	Non planté	0	31-07	19,42	21,75	203	199	0,47	1,09	7,28	7,24	-187,8	-205,2
4	Phragmites	1	31-07	18,83	21,47	165	165	1,19	1,02	6,88	6,37	-84,1	-40,9
5	Phalaris	0	31-07	20,19	21,63	193	182	0,45	1,38	6,85	6,66	-186,9	-136,8
6	Phragmites	0	31-07	20,86	22,03	202	193	0,52	0,64	6,8	6,6	-182,3	-11,8
7	Non planté	1	31-07	19,86	21,77	166	165	2,08	0,66	6,95	7,08	-36,5	-29,1
8	Non planté	1	31-07	18,83	20,87	189	192	0,73	0,22	7,37	7,44	-119,1	-230,3
9	Phalaris	0	31-07	19,23	20,71	202	204	8,66	0,55	6,81	6,84	-200,4	-204,1
10	Phragmites	0	31-07	20,18	21,53	202	208	0,32	0,26	6,95	6,88	-204,9	-203,1
11	Typha	1	31-07	19,36	21,72	171	166	0,53	0,33	6,89	6,77	-114,3	-136,8
12	Non planté	0	31-07	20	21,64	199	201	0,36	0,31	7,36	7,31	-210,9	-205,9
13	Typha	0	31-07	20,66	22,27	177	160	0,48	0,9	6,67	6,54	-120,9	-118,6
14	Phragmites	1	31-07	21,02	22,3	163	161	3,65	0,9	7,08	6,7	32,9	-82,1
1	Typha	0	23-08	16,56	19,76	155	141	0,63	0,77	7,25	6,45	-153,5	-125,9
2	Typha	1	23-08	17	19,52	119	114	5,28	0,88	7,04	6,3	64	-57,8
3	Non planté	0	23-08	17,96	19,79	159	151	0,6	1,2	7,29	7,26	-157,1	-192
4	Phragmites	1	23-08	17,24	19,37	122	126	2,09	1,83	6,64	6,24	-30,9	-16,1
5	Phalaris	0	23-08	18,44	19,54	136	146	0,86	0,64	6,84	6,8	-171,9	-156,9
6	Phragmites	0	23-08	19,49	19,79	151	142	0,48	0,53	6,86	6,72	-168,3	15,9
7	Non planté	1	23-08	18,65	19,95	66	128	0,25	0,41	6,78	7,22	-31,9	3,8
8	Non planté	1	23-08	16,78	18,7	139	139	0,67	0,93	7,19	7,54	-150,1	-102,7
9	Phalaris	0	23-08	17,57	18,76	150	157	7,31	0,35	6,88	6,86	-198,7	-187,9
10	Phragmites	0	23-08	17,83	19,39	156	161	0,54	0,54	7,17	7,1	-147,3	-150,9
11	Typha	1	23-08	18,94	19,87	131	129	0,45	1,39	6,99	6,73	-133,1	-60,1
12	Non planté	0	23-08	18,98	19,86	144	145	0,55	0,47	7,44	7,44	-195,7	-204,1
13	Typha	0	23-08	19,44	20,35	132	135	0,49	0,48	6,82	6,69	-148,9	-150,1

14	Phragmites	1	23-08	19,48	20,43	126	131	5,17	0,72	7,07	6,69	58,9	-90,5
1	Typha	0	06-09	17,14	20,03	184	119	0,84	0,83	6,63	6,28	-139,6	-90,9
2	Typha	1	06-09	18,14	20,07	127	106	4,66	0,85	6,84	6,22	26,9	-58,1
3	Non planté	0	06-09	18,37	20,32	176	147	0,5	0,55	7,68	7,15	-118,4	-179,9
4	Phragmites	1	06-09	18,62	20,38	116	111	1,49	2,03	6,51	6,01	-3,9	5,9
5	Phalaris	0	06-09	18,78	20,28	103	102	0,44	0,49	6,88	6,66	-162,9	-165,9
6	Phragmites	0	06-09	19,64	20,73	111	116	0,67	0,48	6,82	6,6	-147,1	-52,9
7	Non planté	1	06-09	19,03	20,58	83	87	0,26	0,64	6,71	6,89	-95,8	-44,9
8	Non planté	1	06-09	18,14	19,68	152	121	1,16	0,54	7,07	7,19	-111,2	-87,6
9	Phalaris	0	06-09	17,72	19,24	147	149	8,49	0,82	6,58	6,6	-137,9	-162,9
10	Phragmites	0	06-09	17,48	19,75	181	173	0,89	1,29	7,05	6,9	-136,9	-129,1
11	Typha	1	06-09	17,95	20,01	83	98	0,5	0,37	6,65	6,73	-110,3	-87,1
12	Non planté	0	06-09	18,56	20,34	94	111	1,03	6,65	7,23	7,3	-170,9	-145,9
13	Typha	0	06-09	19,08	20,76	87	95	0,38	0,65	6,51	6,55	-105,9	-100,1
14	Phragmites	1	06-09	19,38	21,06	78	97	1,78	0,84	6,45	6,46	5,9	-52,1
1	Typha	0	27-09	17,67	20,5	134	136	0,72	0,66	7,13	6,53	-138,9	-59,1
2	Typha	1	27-09	17,65	20,32	102	108	4,78	0,65	7,05	6,74	38,9	-60,1
3	Non planté	0	27-09	17,98	20,1	126	146	1,43	0,52	7,49	7,33	-48,1	-147,9
4	Phragmites	1	27-09	17,74	20,3	110	110	1,46	1,75	6,85	6,41	-62,8	9,9
5	Phalaris	0	27-09	18,6	20,34	126	122	0,43	0,42	7,02	6,75	-182,9	-173,3
6	Phragmites	0	27-09	19,53	20,35	138	127	0,71	0,72	6,76	6,6	-111,1	-15,1
7	Non planté	1	27-09	18,93	20,45	106	101	1,29	0,58	6,88	6,97	-106,3	-40,7
8	Non planté	1	27-09	17,32	19,51	115	125	0,81	0,45	7	7,28	-93,6	-49
9	Phalaris	0	27-09	17,6	19,46	147	150	8,56	0,35	6,81	6,88	-141,9	-173,2
10	Phragmites	0	27-09	17,56	19,92	137	139	0,4	0,36	7,07	7,02	-132,2	-116,1
11	Typha	1	27-09	18,11	20,48	129	123	0,67	0,42	7,01	6,72	-120,4	-71,3
12	Non planté	0	27-09	17,61	20,41	133	133	0,43	0,35	7,4	7,32	-183,1	-148,9
13	Typha	0	27-09	18,97	20,84	124	119	0,63	0,72	6,67	6,48	-71,9	-67,1
14	Phragmites	1	27-09	19,8	21,22	99	101	4,01	0,8	6,77	6,57	61,9	-34,1
1	Typha	0	17-10	10,54	12,18	324	287	1,93	0,9	7,66	6,55	-25,9	-57,8
2	Typha	1	17-10	10,91	11,85	263	255	4,27	1,49	7,4	6,68	64,9	-39,1
3	Non planté	0	17-10	10,96	11,88	301	310	1,3	0,43	7,75	7,11	-70,9	-139,9
4	Phragmites	1	17-10	11,26	12,07	254	256	1,28	2,21	7,04	6,59	-33,1	-34,1
5	Phalaris	0	17-10	11,77	12,05	336	309	0,42	0,58	7,28	6,86	-182,9	-165,9
6	Phragmites	0	17-10	12,63	12,5	338	308	0,33	0,61	7,06	6,85	-185,9	-88,3
7	Non planté	1	17-10	12,22	12,54	265	278	1,57	0,48	7,07	7,06	-107,1	-78,1
8	Non planté	1	17-10	10,42	11,56	275	283	1	0,46	7,01	7,01	-98,1	-46,5
9	Phalaris	0	17-10	10,79	11,28	319	326	5,06	0,79	7,01	6,81	-156	-152,9
10	Phragmites	0	17-10	11,64	12,16	330	332	0,38	0,59	7,3	6,96	-159,8	-120,1
11	Typha	1	17-10	12,59	12,61	328	319	0,78	0,33	7,09	6,89	-135,1	-91,8
12	Non planté	0	17-10	12,52	12,5	337	323	0,5	0,59	7,36	7,25	-176,9	-150,9
13	Typha	0	17-10	12,97	12,95	314	286	0,58	0,49	6,81	6,74	-103,9	-97,1
14	Phragmites	1	17-10	13,2	13,14	276	271	4,43	2,03	6,93	6,83	39,9	-17,2
1	Typha	0	07-11	8,85	9,08	306	277	0,81	0,69	7,48	6,77	-165,9	-101,5
2	Typha	1	07-11	8,59	8,88	248	241	3,81	1,82	7,24	7,27	10,9	-86,1
3	Non planté	0	07-11	8,41	8,73	286	299	0,66	0,42	7,58	7,24	-143,3	-169,9
4	Phragmites	1	07-11	8,89	9,06	257	249	0,52	1,21	7,23	6,76	-117,1	-73,1
5	Phalaris	0	07-11	8,79	8,92	317	281	0,45	0,93	7,29	6,82	-213,7	-143,9
6	Phragmites	0	07-11	9,14	9,1	312	291	0,53	0,87	7,25	7,05	-203,9	-118,9
7	Non planté	1	07-11	8,89	8,94	283	277	0,32	0,49	7,2	7,2	-146,1	-103,1
8	Non planté	1	07-11	9,29	8,73	247	248	0,78	1,09	7,15	6,97	-117,1	-77,1
9	Phalaris	0	07-11	8,79	8,72	299	302	11,46	0,73	7,1	6,91	-165,9	-186,9
10	Phragmites	0	07-11	9,36	9,2	313	312	0,48	0,34	7,25	7,04	-199,5	-159,3

11	Typha	1	07-11	9,45	9,43	313	297	0,53	0,36	7,22	7,02	-160,5	-123,3
12	Non planté	0	07-11	9,55	9,41	318	311	0,54	2	7,39	7,34	-199,9	-185,9
13	Typha	0	07-11	9,68	9,81	294	269	0,44	0,44	6,98	6,97	-149,9	-143,1
14	Phragmites	1	07-11	9,83	9,93	258	255	2,34	0,69	6,84	6,82	-26,1	-91,1
1	Typha	0	24-11	8,49	7,96	233	227	0,9	0,62	7,41	6,72	-161,9	-95,4
2	Typha	1	24-11	7,64	7,6	194	194	5,25	1,91	7,25	7,11	15,9	-74,1
3	Non planté	0	24-11	7,56	7,66	227	228	0,71	0,49	7,46	7,06	-141,9	-180,1
4	Phragmites	1	24-11	7,93	8,01	198	199	1,17	1,04	6,99	6,6	-99,3	-75,1
5	Phalaris	0	24-11	7,53	7,79	239	218	0,44	1,05	7,13	6,67	-197,5	-137,4
6	Phragmites	0	24-11	7,83	7,95	262	234	0,63	0,71	6,86	6,73	-180,9	-146,3
7	Non planté	1	24-11	7,46	7,67	215	214	0,54	0,58	6,97	7,01	-124,2	-88
8	Non planté	1	24-11	8,18	7,68	193	193	1,03	0,52	6,99	6,91	-88,1	-81,1
9	Phalaris	0	24-11	7,79	7,72	234	231	12,5	0,79	7,04	6,75	-182,4	-165,4
10	Phragmites	0	24-11	8,46	8,25	241	242	0,39	0,33	7,16	6,95	-185,9	-169,9
11	Typha	1	24-11	8,08	8,2	239	229	0,4	0,53	7,04	6,98	-167,5	-133,5
12	Non planté	0	24-11	8,09	8	246	238	1,22	0,43	7,2	7,32	-179,9	-180,9
13	Typha	0	24-11	8,31	8,41	230	220	0,44	0,51	6,83	6,99	-109,5	-133,1
14	Phragmites	1	24-11	8,49	8,65	201	200	3,32	2,17	6,8	6,81	26,3	-37,1
1	Typha	0	20-12	7,4	7,53	256	228	0,62	1	7,02	6,83	-211,6	-103,6
2	Typha	1	20-12	6,92	7,11	198	197	4,2	3,02	7,03	6,92	29,9	-10,1
3	Non planté	0	20-12	6,96	6,91	251	237	0,61	0,61	7,37	7,2	-236	-194,7
4	Phragmites	1	20-12	7,21	7,26	211	210	0,49	1,04	7,09	6,88	-170,7	-100,1
5	Phalaris	0	20-12	7,22	7,16	241	209	0,55	2,24	7,17	6,92	-221,9	-113,1
6	Phragmites	0	20-12	7,52	7,44	238	229	1,36	0,85	7,27	7,23	-206	-165,1
7	Non planté	1	20-12	7,3	7,22	240	231	1,15	1,13	7,52	7,52	-177,6	-135,1
8	Non planté	1	20-12	7,71	7,42	196	197	0,67	0,52	7,28	7,05	-118,6	-89,1
9	Phalaris	0	20-12	7,52	7,64	232	228	1,54	0,8	7,38	6,87	-179,8	-134,5
10	Phragmites	0	20-12	7,78	7,64	245	241	0,47	0,41	7,37	7,06	-228,9	-169,9
11	Typha	1	20-12	7,85	7,59	239	227	0,38	0,54	7,29	7,13	-206,5	-143,1
12	Non planté	0	20-12	7,78	7,56	252	236	0,71	0,4	7,29	7,4	-211,9	-199,9
13	Typha	0	20-12	7,8	7,74	230	215	0,84	0,47	7,31	7,18	-169,9	-165,1
14	Phragmites	1	20-12	7,46	7,54	234	220	0,79	0,67	7,21	7,05	-99,8	-96,1

### Données brutes – Comportement hydraulique

Les deux traçages ont été effectués à l'aide d'une solution de KBr, avec suivi à toutes les bâchées (6h) pour 3 jours, puis à chaque bâchée sur deux (12h) pour les 4 jours suivants. Le suivi d'été a été effectué entre le 11 et 17 septembre inclusivement, et le suivi d'hiver, entre le 16 et le 22 décembre inclusivement.

Le temps de résidence théorique (tau, en heures) a été calculé en considérant l'évapotranspiration selon Chazarenc et al. (2003). Le temps de résidence hydraulique expérimental (TRH, en heures) a été calculé en intégrant l'aire sous la courbe de la réponse du traceur. La proportion de volumes morts (en %) a été calculé en utilisant le volume réactionnel et le rapport entre tau et TRH. Le nombre de Péclet (Pe), soit l'inverse de la dispersion, a été calculé selon le modèle à flux piston avec dispersion axiale en minimisant la somme de carrés des erreurs entre la courbe réponse de [Br<sup>-</sup>] expérimentale et celle calculée selon Levenspiel (1972).

#	Marais			Hydraulique			
	plante	Air	Date	Tau	TRH	Volume mort	Pe
1	Typha	0	Été	52,6	34,5	39,8	11,5
2	Typha	1	Été	51,8	43,5	18,6	6,9
3	Non planté	0	Été	50,1	33,6	38,0	1,8
4	Phragmites	1	Été	50,2	43,1	16,2	7,0
5	Phalaris	0	Été	53,2	38,8	31,3	7,0
6	Phragmites	0	Été	49,5	40,8	20,3	14,7
7	Non planté	1	Été	47,5	38,6	21,6	3,0
8	Non planté	1	Été	47,0	28,9	44,4	4,4
9	Phalaris	0	Été	50,2	26,8	53,8	14,7
10	Phragmites	0	Été	47,8	34,3	32,7	10,5
11	Typha	1	Été	51,0	40,5	23,8	4,6
12	Non planté	0	Été	46,8	28,3	45,6	2,4
13	Typha	0	Été	52,2	40,8	25,1	5,4
14	Phragmites	1	Été	50,4	43,7	15,3	10,5
1	Typha	0	Hiver	47,9	35,5	29,8	9,4
2	Typha	1	Hiver	48,4	40,8	18,3	7,6
3	Non planté	0	Hiver	50,2	37,5	29,1	8,6
4	Phragmites	1	Hiver	48,5	41,6	16,5	8,2
5	Phalaris	0	Hiver	49,8	34,3	35,8	11,5
6	Phragmites	0	Hiver	49,5	42,2	16,9	11,0
7	Non planté	1	Hiver	47,8	34,3	32,6	3,8
8	Non planté	1	Hiver	47,1	37,3	23,9	1,5
9	Phalaris	0	Hiver	48,6	29,5	45,3	8,5
10	Phragmites	0	Hiver	47,5	42,8	11,5	5,3
11	Typha	1	Hiver	47,8	37,5	24,8	9,5
12	Non planté	0	Hiver	47,5	27,2	49,2	4,8
13	Typha	0	Hiver	49,5	38,7	25,1	9,8
14	Phragmites	1	Hiver	48,6	43,9	11,1	3,3

### Données brutes – Gaz

Les mesures ont été prises entre 9h et midi, dans les piézomètres situés à l'avant et à l'arrière des marais. Les valeurs présentées sont les moyennes des trois réplicats analytiques obtenus par les méthodes décrites dans le chapitre 4. Voir le chapitre 4 pour les détails sur le calcul des flux. Les flux de CO<sub>2</sub>-eq sont obtenus en additionnant les données brutes pour les GES (N<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>). Les valeurs pour le N<sub>2</sub> sont des concentrations et non des flux.

#	Marais		Date	Position	N <sub>2</sub> µmol/L	Flux N-N <sub>2</sub> O	C-CO <sub>2</sub>	Flux C-CH <sub>4</sub>	Flux CO <sub>2</sub> -eq
	Plante	Air							
1	Typha	0	07-05	Avant	533,05	0,045	180,3	35,7	1432,2
1	Typha	0	07-05	Arrière	530,71	-0,003	409,2	35,3	1625,1
2	Typha	1	07-05	Avant	572,86	0,055	287,8	0,2	321,5
2	Typha	1	07-05	Arrière	574,43	0,033	348,1	0,0	363,5
3	Non planté	0	07-05	Avant	505,23	0,203	133,1	146,4	5277,1
3	Non planté	0	07-05	Arrière	512,75	-0,004	117,9	105,6	3757,5
4	Phragmites	1	07-05	Avant	570,96	0,179	303,0	29,1	1390,6
4	Phragmites	1	07-05	Arrière	562,65	0,047	496,6	13,0	965,7
5	Phalaris	0	07-05	Avant	533,24	0,036	338,3	91,4	3508,9
5	Phalaris	0	07-05	Arrière	515,47	-0,004	217,7	66,7	2515,5
6	Phragmites	0	07-05	Avant	521,40	0,015	493,8	80,7	3284,1
6	Phragmites	0	07-05	Arrière	545,40	0,013	409,8	48,4	2084,8
7	Non planté	1	07-05	Avant	593,97	0,062	149,6	14,1	663,4
7	Non planté	1	07-05	Arrière	614,39	0,029	65,0	30,0	1113,2
8	Non planté	1	07-05	Avant	591,60	0,106	132,7	12,0	597,5
8	Non planté	1	07-05	Arrière	618,05	0,025	67,1	10,2	429,0
9	Phalaris	0	07-05	Avant	529,97	-0,006	517,7	63,5	2704,3
9	Phalaris	0	07-05	Arrière	522,07	0,000	344,6	41,5	1776,0
10	Phragmites	0	07-05	Avant	469,42	0,035	322,1	142,2	5244,2
10	Phragmites	0	07-05	Arrière	489,95	0,026	287,5	89,1	3373,2
11	Typha	1	07-05	Avant	577,93	0,058	297,0	2,3	401,8
11	Typha	1	07-05	Arrière	597,70	0,061	320,1	1,4	395,4
12	Non planté	0	07-05	Avant	535,67	0,056	105,4	108,2	3864,2
12	Non planté	0	07-05	Arrière	563,95	0,001	91,5	78,0	2781,5
13	Typha	0	07-05	Avant	557,72	-0,004	524,8	24,3	1361,8
13	Typha	0	07-05	Arrière	546,54	-0,002	421,8	14,6	923,6
14	Phragmites	1	07-05	Avant	560,46	0,027	82,6	0,0	94,9
14	Phragmites	1	07-05	Arrière	590,84	0,129	170,8	3,0	332,9
1	Typha	0	07-18	Avant	523,61	0,078	246,4	39,8	1656,4
1	Typha	0	07-18	Arrière	527,21	0,004	390,8	26,8	1316,1
2	Typha	1	07-18	Avant	552,50	0,039	299,7	0,3	328,4
2	Typha	1	07-18	Arrière	561,72	0,023	312,4	0,1	328,2
3	Non planté	0	07-18	Avant	515,31	0,253	127,2	167,7	6031,2
3	Non planté	0	07-18	Arrière	486,38	-0,002	97,8	127,3	4490,1
4	Phragmites	1	07-18	Avant	554,52	0,138	221,7	16,6	857,6
4	Phragmites	1	07-18	Arrière	542,70	0,022	474,4	2,4	567,3
5	Phalaris	0	07-18	Avant	535,80	0,007	453,4	130,0	4941,7
5	Phalaris	0	07-18	Arrière	529,06	-0,001	273,8	61,8	2405,9
6	Phragmites	0	07-18	Avant	514,27	0,002	740,2	113,8	4666,3
6	Phragmites	0	07-18	Arrière	537,82	0,012	515,9	43,1	2008,5
7	Non planté	1	07-18	Avant	591,99	0,507	199,5	26,9	1362,7
7	Non planté	1	07-18	Arrière	688,74	0,160	51,4	18,0	745,6
8	Non planté	1	07-18	Avant	564,19	0,060	137,2	22,2	931,5
8	Non planté	1	07-18	Arrière	579,81	0,004	71,9	19,5	746,7

9	Phalaris	0	07-18	Avant	508,33	-0,003	530,8	92,7	3727,2
9	Phalaris	0	07-18	Arrière	500,78	-0,005	295,5	68,0	2637,8
10	Phragmites	0	07-18	Avant	432,46	0,043	294,1	194,6	7027,3
10	Phragmites	0	07-18	Arrière	513,69	0,015	268,0	114,1	4211,5
11	Typha	1	07-18	Avant	578,59	0,151	312,3	18,1	1007,5
11	Typha	1	07-18	Arrière	596,24	-0,004	333,7	6,6	558,1
12	Non planté	0	07-18	Avant	491,97	0,043	245,5	196,1	7032,7
12	Non planté	0	07-18	Arrière	556,33	-0,001	116,9	77,5	2791,2
13	Typha	0	07-18	Avant	562,11	0,026	769,7	87,4	3797,8
13	Typha	0	07-18	Arrière	554,96	0,001	548,7	20,4	1251,8
14	Phragmites	1	07-18	Avant	568,10	0,055	132,0	1,8	220,3
14	Phragmites	1	07-18	Arrière	589,67	0,351	357,1	4,6	678,0
1	Typha	0	07-31	Avant	500,71	0,067	212,5	53,1	2074,4
1	Typha	0	07-31	Arrière	518,73	0,004	420,3	28,1	1392,9
2	Typha	1	07-31	Avant	554,32	0,061	338,8	0,2	372,7
2	Typha	1	07-31	Arrière	553,43	0,070	384,3	0,0	417,0
3	Non planté	0	07-31	Avant	426,89	0,315	188,2	201,0	7267,6
3	Non planté	0	07-31	Arrière	494,21	0,000	97,2	123,5	4358,3
4	Phragmites	1	07-31	Avant	573,78	0,143	347,3	9,9	755,0
4	Phragmites	1	07-31	Arrière	562,66	0,135	429,4	1,3	536,1
5	Phalaris	0	07-31	Avant	539,94	0,017	355,0	71,2	2819,0
5	Phalaris	0	07-31	Arrière	559,06	0,002	253,6	35,7	1486,5
6	Phragmites	0	07-31	Avant	519,31	0,169	521,8	70,4	3030,2
6	Phragmites	0	07-31	Arrière	565,39	0,603	399,3	22,4	1453,6
7	Non planté	1	07-31	Avant	565,11	0,364	148,7	2,8	414,6
7	Non planté	1	07-31	Arrière	627,44	0,090	55,1	2,6	185,3
8	Non planté	1	07-31	Avant	591,12	0,046	162,9	5,7	380,1
8	Non planté	1	07-31	Arrière	601,72	0,023	54,8	7,5	323,4
9	Phalaris	0	07-31	Avant	507,34	-0,008	487,4	80,8	3271,8
9	Phalaris	0	07-31	Arrière	521,23	-0,002	316,3	46,6	1923,0
10	Phragmites	0	07-31	Avant	433,73	0,047	308,0	125,0	4641,5
10	Phragmites	0	07-31	Arrière	482,43	0,025	266,9	89,3	3361,0
11	Typha	1	07-31	Avant	564,83	0,065	271,4	3,2	412,4
11	Typha	1	07-31	Arrière	602,56	0,319	261,6	2,5	495,3
12	Non planté	0	07-31	Avant	523,51	0,008	121,9	103,3	3690,1
12	Non planté	0	07-31	Arrière	537,57	0,012	81,6	70,7	2524,7
13	Typha	0	07-31	Avant	575,77	0,029	449,7	31,1	1536,0
13	Typha	0	07-31	Arrière	567,10	0,002	374,5	22,3	1145,7
14	Phragmites	1	07-31	Avant	571,85	0,049	82,2	0,0	105,2
14	Phragmites	1	07-31	Arrière	591,13	0,104	192,7	0,8	268,6
1	Typha	0	08-23	Avant	544,64	0,049	242,1	50,5	2007,4
1	Typha	0	08-23	Arrière	555,43	0,018	398,8	42,7	1879,8
2	Typha	1	08-23	Avant	572,66	0,076	192,9	0,0	228,2
2	Typha	1	08-23	Arrière	585,67	0,051	378,6	0,0	402,4
3	Non planté	0	08-23	Avant	457,46	0,200	166,5	225,2	8027,9
3	Non planté	0	08-23	Arrière	479,08	-0,005	87,5	127,7	4492,6
4	Phragmites	1	08-23	Avant	565,27	0,149	256,8	3,9	460,2
4	Phragmites	1	08-23	Arrière	563,72	0,371	348,7	1,3	564,7
5	Phalaris	0	08-23	Avant	591,79	0,027	359,2	49,0	2061,4
5	Phalaris	0	08-23	Arrière	581,58	0,002	293,2	36,2	1541,6
6	Phragmites	0	08-23	Avant	525,75	0,198	422,2	104,6	4122,2
6	Phragmites	0	08-23	Arrière	571,96	0,889	278,2	43,4	2189,4
7	Non planté	1	08-23	Avant	567,74	0,051	58,2	2,1	155,9
7	Non planté	1	08-23	Arrière	663,80	0,011	43,9	4,6	206,9
8	Non planté	1	08-23	Avant	594,71	0,049	137,5	2,7	254,7
8	Non planté	1	08-23	Arrière	644,74	-0,003	26,1	3,3	140,0
9	Phalaris	0	08-23	Avant	506,71	-0,005	412,1	93,0	3617,2
9	Phalaris	0	08-23	Arrière	518,87	-0,005	280,9	51,6	2060,6
10	Phragmites	0	08-23	Avant	565,37	0,046	137,3	23,5	970,9
10	Phragmites	0	08-23	Arrière	534,72	0,090	145,1	48,3	1852,8



11	Typha	1	08-23	Avant	616,03	0,089	280,4	5,3	503,5
11	Typha	1	08-23	Arrière	613,63	0,024	248,5	1,5	311,4
12	Non planté	0	08-23	Avant	545,24	0,071	126,5	133,5	4766,1
12	Non planté	0	08-23	Arrière	599,51	0,008	48,8	65,6	2314,1
13	Typha	0	08-23	Avant	618,75	0,020	286,6	14,4	792,4
13	Typha	0	08-23	Arrière	592,70	0,115	333,1	4,1	526,8
14	Phragmites	1	08-23	Avant	569,48	0,042	52,9	0,9	103,2
14	Phragmites	1	08-23	Arrière	596,64	0,135	167,2	0,0	230,0
1	Typha	0	09-06	Avant	512,25	0,072	343,5	62,0	2515,0
1	Typha	0	09-06	Arrière	522,12	0,020	457,1	12,0	881,9
2	Typha	1	09-06	Avant	549,77	0,142	245,8	0,0	311,7
2	Typha	1	09-06	Arrière	548,52	0,095	380,5	0,0	424,6
3	Non planté	0	09-06	Avant	491,67	0,057	157,9	132,0	4737,8
3	Non planté	0	09-06	Arrière	506,47	0,009	76,2	84,9	3008,5
4	Phragmites	1	09-06	Avant	541,05	0,237	350,8	2,5	546,6
4	Phragmites	1	09-06	Arrière	539,78	0,380	351,6	0,9	557,9
5	Phalaris	0	09-06	Avant	548,31	0,020	239,2	57,6	2236,0
5	Phalaris	0	09-06	Arrière	547,86	0,005	245,2	49,5	1954,0
6	Phragmites	0	09-06	Avant	494,44	0,100	385,6	99,7	3873,1
6	Phragmites	0	09-06	Arrière	552,23	0,323	309,8	48,5	2135,0
7	Non planté	1	09-06	Avant	562,69	0,031	87,6	1,6	155,7
7	Non planté	1	09-06	Arrière	593,69	0,010	59,5	1,6	121,2
8	Non planté	1	09-06	Avant	626,40	0,117	152,6	2,0	277,2
8	Non planté	1	09-06	Arrière	641,45	0,012	45,6	2,3	131,0
9	Phalaris	0	09-06	Avant	539,44	0,005	705,1	36,2	1955,3
9	Phalaris	0	09-06	Arrière	520,28	0,006	316,5	26,0	1214,3
10	Phragmites	0	09-06	Avant	548,57	0,012	133,3	6,1	348,4
10	Phragmites	0	09-06	Arrière	557,53	0,064	175,9	8,8	509,3
11	Typha	1	09-06	Avant	570,64	0,046	259,8	9,0	591,2
11	Typha	1	09-06	Arrière	580,79	0,006	253,2	1,4	303,0
12	Non planté	0	09-06	Avant	508,94	0,043	96,3	109,5	3894,9
12	Non planté	0	09-06	Arrière	590,02	0,070	41,1	49,9	1795,7
13	Typha	0	09-06	Avant	575,71	0,075	256,8	18,7	935,2
13	Typha	0	09-06	Arrière	554,91	0,083	339,8	10,5	741,4
14	Phragmites	1	09-06	Avant	547,50	0,152	162,5	0,0	233,3
14	Phragmites	1	09-06	Arrière	565,19	0,199	211,1	0,0	303,6
1	Typha	0	09-27	Avant	486,75	0,200	394,7	80,0	3246,7
1	Typha	0	09-27	Arrière	514,87	0,062	412,2	35,4	1662,7
2	Typha	1	09-27	Avant	543,55	0,060	269,1	1,3	341,1
2	Typha	1	09-27	Arrière	540,05	0,048	328,6	0,1	354,7
3	Non planté	0	09-27	Avant	454,14	0,128	147,4	186,8	6653,0
3	Non planté	0	09-27	Arrière	539,56	0,486	66,0	78,2	2990,7
4	Phragmites	1	09-27	Avant	536,37	0,065	275,6	4,1	448,1
4	Phragmites	1	09-27	Arrière	531,53	0,161	361,5	1,6	489,8
5	Phalaris	0	09-27	Avant	535,30	0,021	362,1	53,0	2199,1
5	Phalaris	0	09-27	Arrière	535,42	-0,002	376,7	30,4	1423,8
6	Phragmites	0	09-27	Avant	507,83	0,203	564,7	86,5	3642,5
6	Phragmites	0	09-27	Arrière	543,44	0,367	305,7	19,4	1145,9
7	Non planté	1	09-27	Avant	558,61	0,121	154,2	2,5	298,2
7	Non planté	1	09-27	Arrière	595,61	0,004	85,2	0,9	119,5
8	Non planté	1	09-27	Avant	563,10	0,045	207,8	1,4	278,1
8	Non planté	1	09-27	Arrière	595,49	0,088	56,2	7,8	368,0
9	Phalaris	0	09-27	Avant	503,63	0,034	472,6	52,1	2285,1
9	Phalaris	0	09-27	Arrière	497,90	0,032	285,9	27,6	1253,3
10	Phragmites	0	09-27	Avant	527,81	0,043	185,2	14,9	717,6
10	Phragmites	0	09-27	Arrière	545,17	0,092	200,9	11,4	637,5
11	Typha	1	09-27	Avant	560,53	0,293	384,9	20,2	1216,8
11	Typha	1	09-27	Arrière	573,78	0,042	369,4	1,4	438,0
12	Non planté	0	09-27	Avant	487,18	0,097	117,7	126,1	4512,7
12	Non planté	0	09-27	Arrière	574,00	0,063	62,3	46,9	1709,8

13	Typha	0	09-27	Avant	555,09	0,041	435,8	17,8	1068,5
13	Typha	0	09-27	Arrière	553,22	0,244	484,3	1,5	650,4
14	Phragmites	1	09-27	Avant	560,97	0,074	172,2	0,0	206,5
14	Phragmites	1	09-27	Arrière	558,99	0,151	250,5	0,0	320,8
1	Typha	0	10-17	Avant	599,10	0,026	321,7	41,6	1770,5
1	Typha	0	10-17	Arrière	601,16	0,042	347,2	18,5	1005,9
2	Typha	1	10-17	Avant	617,80	0,090	284,4	0,0	326,4
2	Typha	1	10-17	Arrière	627,90	0,053	271,1	0,0	295,7
3	Non planté	0	10-17	Avant	554,43	0,218	141,6	189,1	6768,1
3	Non planté	0	10-17	Arrière	619,17	0,003	50,8	55,5	1968,6
4	Phragmites	1	10-17	Avant	605,74	0,062	318,1	6,9	584,5
4	Phragmites	1	10-17	Arrière	612,82	0,079	246,1	0,7	307,2
5	Phalaris	0	10-17	Avant	612,21	0,033	181,0	94,1	3444,2
5	Phalaris	0	10-17	Arrière	623,78	0,166	260,8	37,3	1625,7
6	Phragmites	0	10-17	Avant	581,88	0,060	421,6	98,6	3852,9
6	Phragmites	0	10-17	Arrière	590,06	0,084	291,4	28,4	1311,9
7	Non planté	1	10-17	Avant	640,63	0,120	243,2	2,2	374,9
7	Non planté	1	10-17	Arrière	676,16	0,002	110,5	1,4	161,0
8	Non planté	1	10-17	Avant	621,53	0,087	192,3	1,1	269,1
8	Non planté	1	10-17	Arrière	691,52	0,136	66,0	0,7	152,8
9	Phalaris	0	10-17	Avant	615,16	0,036	260,7	44,8	1821,4
9	Phalaris	0	10-17	Arrière	591,55	0,198	232,0	37,0	1601,5
10	Phragmites	0	10-17	Avant	599,36	0,023	122,0	28,8	1124,8
10	Phragmites	0	10-17	Arrière	611,68	0,019	188,0	15,7	739,8
11	Typha	1	10-17	Avant	630,59	0,053	644,0	93,2	3883,9
11	Typha	1	10-17	Arrière	630,92	0,049	276,4	9,4	622,8
12	Non planté	0	10-17	Avant	555,49	0,043	171,7	175,6	6249,8
12	Non planté	0	10-17	Arrière	638,04	0,004	84,4	56,2	2023,9
13	Typha	0	10-17	Avant	647,42	0,018	438,2	15,9	995,7
13	Typha	0	10-17	Arrière	625,59	0,033	337,0	5,9	557,4
14	Phragmites	1	10-17	Avant	636,33	0,123	188,4	0,0	245,6
14	Phragmites	1	10-17	Arrière	637,39	0,156	200,4	0,0	273,0
1	Typha	0	11-07	Avant	614,64	0,029	340,7	85,3	3295,6
1	Typha	0	11-07	Arrière	631,51	0,002	248,7	27,9	1210,9
2	Typha	1	11-07	Avant	640,35	0,079	215,4	2,7	346,0
2	Typha	1	11-07	Arrière	653,06	0,018	158,0	0,0	166,6
3	Non planté	0	11-07	Avant	588,44	0,138	126,1	157,9	5639,3
3	Non planté	0	11-07	Arrière	661,06	0,001	39,7	50,9	1796,6
4	Phragmites	1	11-07	Avant	639,00	0,060	343,1	28,0	1336,3
4	Phragmites	1	11-07	Arrière	637,48	0,049	267,0	1,0	323,9
5	Phalaris	0	11-07	Avant	645,70	0,019	129,0	75,6	2746,6
5	Phalaris	0	11-07	Arrière	639,39	0,031	148,0	43,1	1649,6
6	Phragmites	0	11-07	Avant	642,33	0,025	233,2	38,4	1568,9
6	Phragmites	0	11-07	Arrière	628,57	0,049	232,3	19,5	928,2
7	Non planté	1	11-07	Avant	670,58	0,060	241,9	1,7	328,0
7	Non planté	1	11-07	Arrière	701,59	-0,003	92,5	0,8	119,3
8	Non planté	1	11-07	Avant	659,46	0,059	235,4	1,6	319,5
8	Non planté	1	11-07	Arrière	698,04	0,016	88,4	0,5	114,0
9	Phalaris	0	11-07	Avant	658,96	0,031	239,4	48,8	1938,9
9	Phalaris	0	11-07	Arrière	630,25	0,047	195,2	44,9	1764,9
10	Phragmites	0	11-07	Avant	622,40	0,112	163,1	52,2	2014,8
10	Phragmites	0	11-07	Arrière	634,89	0,004	182,7	20,8	901,1
11	Typha	1	11-07	Avant	658,88	0,051	606,8	69,0	3012,2
11	Typha	1	11-07	Arrière	669,41	0,002	213,5	9,7	550,4
12	Non planté	0	11-07	Avant	584,78	0,071	206,2	174,3	6251,8
12	Non planté	0	11-07	Arrière	647,38	0,011	65,9	53,0	1897,8
13	Typha	0	11-07	Avant	674,41	0,017	300,0	12,5	737,7
13	Typha	0	11-07	Arrière	662,25	0,010	293,7	5,0	471,4
14	Phragmites	1	11-07	Avant	652,64	0,038	288,5	1,7	365,6

14	Phragmites	1	11-07	Arrière	651,64	0,068	208,0	0,0	239,8
1	Typha	0	11-24	Avant	619,57	0,036	282,1	110,0	4095,0
1	Typha	0	11-24	Arrière	635,10	0,009	209,9	36,0	1455,3
2	Typha	1	11-24	Avant	651,55	0,052	189,9	2,6	304,7
2	Typha	1	11-24	Arrière	656,56	0,027	154,6	0,0	167,2
3	Non planté	0	11-24	Avant	615,83	0,106	104,1	150,9	5361,3
3	Non planté	0	11-24	Arrière	650,57	0,014	48,5	61,9	2191,7
4	Phragmites	1	11-24	Avant	656,90	0,049	330,3	24,4	1193,4
4	Phragmites	1	11-24	Arrière	653,03	0,045	255,2	1,5	329,0
5	Phalaris	0	11-24	Avant	622,99	0,020	122,1	81,2	2932,1
5	Phalaris	0	11-24	Arrière	632,18	0,022	142,4	65,4	2408,0
6	Phragmites	0	11-24	Avant	631,46	0,055	373,6	65,3	2653,6
6	Phragmites	0	11-24	Arrière	630,01	0,052	269,9	29,3	1305,2
7	Non planté	1	11-24	Avant	700,36	0,055	197,9	14,2	712,3
7	Non planté	1	11-24	Arrière	703,06	-0,003	82,4	1,1	120,1
8	Non planté	1	11-24	Avant	690,79	0,031	229,5	1,1	282,3
8	Non planté	1	11-24	Arrière	711,77	0,009	86,3	0,6	110,9
9	Phalaris	0	11-24	Avant	655,85	0,036	231,2	29,4	1261,7
9	Phalaris	0	11-24	Arrière	641,22	0,071	212,9	37,1	1527,6
10	Phragmites	0	11-24	Avant	630,03	0,064	143,0	60,9	2273,6
10	Phragmites	0	11-24	Arrière	623,76	0,019	167,0	28,1	1145,2
11	Typha	1	11-24	Avant	655,68	0,038	603,1	74,9	3205,7
11	Typha	1	11-24	Arrière	669,10	0,003	183,6	13,3	644,4
12	Non planté	0	11-24	Avant	594,06	0,038	285,6	190,0	6858,9
12	Non planté	0	11-24	Arrière	677,90	0,045	40,6	37,8	1365,6
13	Typha	0	11-24	Avant	667,11	0,011	231,5	12,7	675,5
13	Typha	0	11-24	Arrière	649,84	0,009	240,0	7,9	517,6
14	Phragmites	1	11-24	Avant	674,90	0,091	253,3	0,3	306,6
14	Phragmites	1	11-24	Arrière	670,21	0,104	185,1	0,0	233,4
1	Typha	0	12-20	Avant	637,67	0,054	443,4	114,0	4402,9
1	Typha	0	12-20	Arrière	667,25	0,004	210,5	23,2	1012,5
2	Typha	1	12-20	Avant	676,85	0,061	238,0	2,5	352,6
2	Typha	1	12-20	Arrière	684,78	0,016	139,0	0,1	150,4
3	Non planté	0	12-20	Avant	621,84	0,191	118,7	153,4	5501,4
3	Non planté	0	12-20	Arrière	644,91	0,007	74,9	79,1	2806,5
4	Phragmites	1	12-20	Avant	688,18	0,176	338,8	44,6	1961,2
4	Phragmites	1	12-20	Arrière	687,33	0,014	198,3	4,9	374,1
5	Phalaris	0	12-20	Avant	663,81	0,045	190,9	107,9	3933,8
5	Phalaris	0	12-20	Arrière	665,78	0,063	160,4	52,4	1996,4
6	Phragmites	0	12-20	Avant	666,53	0,071	197,9	90,6	3356,1
6	Phragmites	0	12-20	Arrière	674,43	0,014	134,6	31,3	1220,8
7	Non planté	1	12-20	Avant	714,95	0,020	153,4	27,8	1120,8
7	Non planté	1	12-20	Arrière	712,54	-0,002	47,8	2,9	145,9
8	Non planté	1	12-20	Avant	743,29	0,015	251,9	2,6	347,7
8	Non planté	1	12-20	Arrière	764,44	0,002	79,1	0,6	101,7
9	Phalaris	0	12-20	Avant	689,28	0,028	164,9	37,8	1483,4
9	Phalaris	0	12-20	Arrière	666,93	0,382	185,6	17,7	975,4
10	Phragmites	0	12-20	Avant	671,53	0,118	150,9	54,4	2083,9
10	Phragmites	0	12-20	Arrière	674,52	0,022	108,2	23,6	932,2
11	Typha	1	12-20	Avant	703,87	0,032	422,3	73,0	2954,7
11	Typha	1	12-20	Arrière	712,05	0,035	138,0	13,1	607,8
12	Non planté	0	12-20	Avant	574,65	0,040	278,2	219,3	7862,9
12	Non planté	0	12-20	Arrière	673,52	0,001	44,6	44,8	1591,0
13	Typha	0	12-20	Avant	704,33	0,008	254,3	51,0	2018,0
13	Typha	0	12-20	Arrière	695,65	0,006	175,1	13,9	658,7
14	Phragmites	1	12-20	Avant	712,81	-0,007	214,6	4,5	366,8
14	Phragmites	1	12-20	Arrière	708,38	0,008	160,3	0,7	188,9

*Données brutes – Plantes et contenu en azote*

Les valeurs présentées sont les moyennes et les écart-types pour les trois réplicats analysés pour chaque marais, position et partie. La biomasse présentée est la biomasse sèche pour chaque marais (voir méthode d'estimation au chapitre 3).

#	Marais				% N		% C		C:N		Biomasse Kg
	Plante	Air	position	partie	Moy	$\sigma$	moy	$\sigma$	moy	$\sigma$	
1	Typha	0	avant	apex	3,69	0,62	46,24	1,41	14,85	2,27	2,01
1	Typha	0	avant	racine	2,21	0,65	41,58	1,20	23,29	6,91	
1	Typha	0	avant	tige	2,02	0,15	39,61	1,19	22,97	2,26	
1	Typha	0	arrière	apex	3,87	0,38	46,58	0,72	14,13	1,48	
1	Typha	0	arrière	racine	2,21	0,47	42,30	0,61	22,97	4,70	
1	Typha	0	arrière	tige	2,26	0,28	45,01	4,99	23,54	4,62	
2	Typha	1	avant	apex	4,33	0,68	47,24	2,76	12,87	1,44	2,42
2	Typha	1	avant	racine	2,99	1,00	42,31	1,50	18,03	6,95	
2	Typha	1	avant	tige	2,34	0,43	41,63	1,20	21,25	4,18	
2	Typha	1	arrière	apex	3,05	0,23	46,04	0,78	17,68	1,11	
2	Typha	1	arrière	racine	1,22	0,18	44,21	4,02	42,74	5,54	
2	Typha	1	arrière	tige	1,93	0,19	43,61	0,51	26,48	2,51	
4	Phragmites	1	avant	apex	3,79	0,27	45,50	0,74	14,05	0,80	1,76
4	Phragmites	1	avant	racine	2,29	0,32	43,12	0,61	22,29	3,55	
4	Phragmites	1	avant	tige	3,18	0,46	42,53	1,84	15,79	2,37	
4	Phragmites	1	arrière	apex	2,98	0,16	42,56	2,42	16,65	0,16	
4	Phragmites	1	arrière	racine	1,59	0,82	46,33	2,89	39,38	16,58	
4	Phragmites	1	arrière	tige	1,07	0,34	45,48	0,45	53,36	18,31	
5	Phalaris	0	avant	apex	4,23	0,38	48,58	1,51	13,50	1,60	1,73
5	Phalaris	0	avant	racine	1,93	0,62	50,38	2,84	31,81	8,58	
5	Phalaris	0	avant	tige	1,39	0,32	45,15	1,53	39,12	7,61	
5	Phalaris	0	arrière	apex	3,52	0,20	44,43	1,04	14,76	0,66	
5	Phalaris	0	arrière	racine	1,70	0,15	44,23	2,01	30,51	3,88	
5	Phalaris	0	arrière	tige	1,28	0,35	44,76	0,86	43,40	13,92	
6	Phragmites	0	avant	apex	3,83	0,35	46,35	0,41	14,22	1,48	1,29
6	Phragmites	0	avant	racine	1,62	0,70	45,89	2,75	37,28	15,04	
6	Phragmites	0	avant	tige	1,90	0,18	44,10	0,19	27,25	2,61	
6	Phragmites	0	arrière	apex	3,61	0,16	46,30	0,23	14,96	0,74	
6	Phragmites	0	arrière	racine	1,66	0,47	41,93	3,92	31,21	10,18	
6	Phragmites	0	arrière	tige	2,31	0,09	44,17	0,93	22,34	1,33	
9	Phalaris	0	avant	apex	3,76	0,78	46,62	3,45	15,06	4,39	2,13
9	Phalaris	0	avant	tige	1,16	0,20	42,94	2,22	43,83	5,58	
9	Phalaris	0	arrière	apex	3,47	0,28	40,69	2,05	13,73	1,25	
9	Phalaris	0	arrière	tige	0,95	0,37	46,96	3,66	62,41	20,30	
10	Phragmites	0	avant	apex	3,83	0,56	43,38	2,20	13,39	1,81	0,55
10	Phragmites	0	avant	tige	1,75	0,46	41,97	0,72	29,41	8,24	
10	Phragmites	0	arrière	apex	3,99	0,46	47,73	3,90	14,07	2,09	
10	Phragmites	0	arrière	tige	1,51	0,39	44,04	1,48	35,14	6,89	
11	Typha	1	avant	apex	3,38	0,19	45,28	1,43	15,64	0,38	2,01
11	Typha	1	avant	tige	1,93	0,30	40,80	1,36	25,17	4,50	
11	Typha	1	arrière	apex	3,00	0,30	45,53	3,09	17,87	2,90	
11	Typha	1	arrière	tige	1,87	0,45	42,55	3,61	27,63	7,27	

13	Typha	0	avant	apex	3,79	0,57	46,36	1,20	14,47	2,11	
13	Typha	0	avant	tige	1,88	0,22	39,19	4,23	24,34	0,89	2,95
13	Typha	0	arrière	apex	3,98	0,90	49,60	4,03	14,86	2,39	
13	Typha	0	arrière	tige	1,90	0,43	43,53	1,97	27,54	5,68	
14	Phragmites	1	avant	apex	3,61	0,17	44,45	0,98	14,38	0,72	
14	Phragmites	1	avant	tige	1,86	0,21	43,09	2,53	27,12	1,83	0,79
14	Phragmites	1	arrière	apex	3,69	0,40	44,24	2,83	14,10	1,76	
14	Phragmites	1	arrière	tige	1,26	0,18	44,82	0,92	42,18	6,24	



	Mac (M)	48,2 ***	37,3 ***					
	Oxygène (O)	116,2 ***	-		- O <sub>2</sub>	A		
	Saison (S)	12,8 ***	12,0 ***		+ O <sub>2</sub>	B		
	M X O	9,9 ***	-		Été/Automne	B		
					Hiver	A		
				+ O <sub>2</sub>	Typha	B	- O <sub>2</sub>	Typha C
					Phragmites	B		Phragmites B
					Non-planté	A		Phalaris B
								Non-planté A
	M X S	0,5 ns	0,4 ns					
	O X S	1,2 ns	-					
	M X O X S	0,7 ns	-					
NO <sub>y</sub>	Modèle	8,0 ***	11,5 ***					
	Mac (M)	17,0 ***	14,5 ***		Typha	AB		
					Phragmites	A		
					Phalaris	B		
					Non-planté	B		
	Oxygène (O)	29,5 ***	-		- O <sub>2</sub>	B		
	Saison (S)	21,3 ***	26,4 ***		+ O <sub>2</sub>	A		
					Été	B		
					Automne/Hiver	A		
	M X O	0,6 ns	-					
	M X S	2,0 ns	2,2 ns					
	O X S	0,1 ns	-					
	M X O X S	0,6 ns	-					

Les résultats présentés sont les résultats des tests de comparaisons multiples de moyennes pour les deux jeux de données, soit le test de Tukey et le T de Tahmane (pour variances inégales).

Variable	Aération				Plantes			
	Facteur 1	Facteur 2	Tukey	Tahmane	Facteur 1	Facteur 2	Tukey	Tahmane
TN/TDN	Typha	Aéré	B					
		Non-aéré	A					
	Phragmites	Aéré	B					
		Non-aéré	A					
	Non-planté	Aéré	B					
		Non-aéré	A					
	Aéré	Typha	B	B	Typha	Été	B	
		Phragmites	B	B		Automne	B	
		Non-planté	A	A		Hiver	A	
	Non-aéré	Typha	C	C	Phragmites	Été	A	
		Phragmites	B	B		Automne	A	
		Non-planté	A	A		Hiver	A	
	Typha	Été	B	B	Phalaris	Été	A	
		Automne	B	B		Automne	A	
		Hiver	A	A		Hiver	A	
	Phragmites	Été	A	A	Non-planté	Été	A	
		Automne	A	A		Automne	A	
		Hiver	A	A		Hiver	A	
	Non-planté	Été	A	A	Été	Typha	C	
		Automne	A	A		Phragmites	B	
		Hiver	A	A		Phalaris	B	
	Été	Typha	C	C	Non-planté	Non-planté	A	
		Phragmites	B	B	Automne	Typha	C	
		Non-planté	A	A		Phragmites	B	
	Automne	Typha	B	B		Phalaris	B	

		Phragmites	B	B			
		Non-planté	A	A	Hiver	Non-planté	A
	Hiver	Typha	A	A		Typha	B
		Phragmites	A	A		Phragmites	AB
		Non-planté	A	A		Phalaris	AB
						Non-planté	A
<b>PN</b>	Typha		B	B	Typha		B B
	Phragmites		B	B	Phragmites		AB AB
	Non-planté		A	A	Phalaris		AB AB
	Aéré		B		Non-planté		A A
	Non-aéré		A				
<b>DON</b>	Été		A	A	Été		A
	Automne		B	B	Automne		A
	Hiver		B	B	Hiver		A
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	Typha	Aéré	B		Typha		C C
		Non-aéré	A		Phragmites		B B
	Phragmites	Aéré	B		Phalaris		B B
		Non-aéré	A		Non-planté		A A
	Non-planté	Aéré	B		Été		B B
		Non-aéré	A		Automne		A AB
	Aéré	Typha	B	B	Hiver		A A
		Phragmites	B	B			
		Non-planté	A	A			
	Non-aéré	Typha	C	C			
		Phragmites	B	B			
		Non-planté	A	A			
	Été		B	B			
	Automne		B	B			
	Hiver		A	A			
<b>NO<sub>y</sub></b>	Typha		B	B	Typha		B AB
	Phragmites		A	A	Phragmites		A A
	Non-planté		C	B	Phalaris		C B
	Aéré		A		Non-planté		BC B
	Non-aéré		B		Été		B B
	Été		B	B	Automne		A A
	Automne		A	A	Hiver		A A
	Hiver		A	A			



*Analyses – ANOVA et tests de Tukey pour les flux de GES*

Les résultats présentés sont en rapport avec les flux de GES, pour les deux jeux de données (voir chapitre 4). L'été comprend les dates jusqu'au 26 septembre inclusivement, l'automne comprend les 17 octobre et 7 novembre, et l'hiver les 24 novembre et 20 décembre. La position est une variable binaire (avant/arrière) dont l'effet biologique est de peu d'intérêt. Les données non normales ont été transformées par la méthode de Box-Cox.

Mac = macrophytes

Signification : ns =  $p > 0,05$  ; \* =  $p < 0,05$  ; \*\* =  $p < 0,01$  ; \*\*\* =  $p < 0,001$

A = Plus grand flux

Variable	Terme	Aération		Plantes		Tukey HSD					
		F	Sig	F	Sig						
N2O	Modèle	3,9	***	4,6	***						
	Mac (M)	8,2	***	3,3	*	Typha	BC				
						Phragmites	A				
						Phalaris	C				
						Non-planté	AB				
	Oxygène (O)	4,3	*	-	-	- O <sub>2</sub>	B				
						+ O <sub>2</sub>	A				
	Saison (S)	10,0	***	0,2	ns	Été	A				
						Automne	AB				
						Hiver	B				
	Position (P)	32,3	***	10,0	**						
	M X O	2,8	ns	-	-						
	M X S	0,2	ns	5,0	***						
	O X S	2,0	ns	-	-						
	M X O X S	0,5	ns	-	-						
	M X P	9,0	***	8,6	***						
	O X P	0,8	ns	-	-						
	M X O X P	1,1	ns	-	-						
S X P	0,9	ns	0,1	ns							
M X S X P	1,0	ns	1,9	ns							
O X S X P	0,1	ns	-	-							
M X O X S X P	0,3	ns	-	-							
CO2	Modèle	14,7	***	14,8	***						
	Mac (M)	108,0	***	46,3	***	Typha	A				
						Phragmites	B				
						Phalaris	B				
						Non-planté	C				
	Oxygène (O)	0,0	ns	-	-						
	Saison (S)	4,7	**	23,7	***						
	Position (P)	48,2	***	18,5	***						
	M X O	1,7	ns	-	-						
	M X S	4,0	**	3,1	**	Planté	Été	A	Non-planté	Été	A
						Automne/Hiver	B		Automne/Hiver	A	
	O X S	7,2	***	-	-						
	M X O X S	0,5	ns	-	-						
	M X P	13,3	***	5,0	**						
	O X P	0,8	ns	-	-						
	M X O X P	1,8	ns	-	-						
	S X P	11,4	***	0,6	ns						
	M X S X P	1,0	ns	2,1	ns						
O X S X P	1,9	ns	-	-							

	M X O X S X P	1,7	ns	-															
CH4	Modèle	19,7	***	9,7	***														
	Mac (M)	13,3	***	35,0	***														
	Oxygène (O)	369,3	***	-															
	Saison (S)	2,2	ns	2,1	ns														
	Position (P)	55,5	***	62,8	***														
	M X O	16,7	***	-															
	M X S	2,8	*	0,7	ns														
	O X S	1,3	ns	-															
	M X O X S	2,3	ns	-															
	M X P	0,2	ns	2,2	ns														
	O X P	0,6	ns	-															
	M X O X P	1,9	ns	-															
	S X P	4,7	**	1,2	ns														
	M X S X P	0,1	ns	0,4	ns														
	O X S X P	0,6	ns	-															
	M X O X S X P	0,2	ns	-															
CO2eq	Modèle	19,7	***	9,3	***														
	Mac (M)	2,7	ns	30,5	***														
	Oxygène (O)	341,9	***	-															
	Saison (S)	1,1	ns	3,7	*														
	Position (P)	76,1	***	70,0	***														
	M X O	40,1	***	-															
	M X S	1,1	ns	0,6	ns														
	O X S	1,4	ns	-															
	M X O X S	1,5	ns	-															
	M X P	3,3	*	3,4	*														
	O X P	1,1	ns	-															
	M X O X P	0,6	ns	-															
	S X P	11,8	***	2,0	ns														
	M X S X P	0,0	ns	0,7	ns														
	O X S X P	1,7	ns	-															
	M X O X S X P	0,3	ns	-															
N2	Modèle	31,3	***	24,3	***														
	Mac (M)	4,0	*	4,9	**														
	Oxygène (O)	112,0	***	-															
	Saison (S)	392,0	***	250,4	***														
	Position (P)	21,6	***	8,6	**														
	M X O	21,0	***	-															
	M X S	0,4	ns	0,2	ns														

OXS	2,6	ns	-	
MXOXS	0,1	ns	-	
MXP	10,5	***	7,2	***
OXp	1,3	ns	-	
MXOXp	1,5	ns	-	
SXP	0,4	ns	0,0	ns
MXSXP	0,7	ns	0,7	ns
OXsXP	0,2	ns	-	
MXOXsXP	0,8	ns	-	

Les résultats présentés sont les résultats des tests de comparaisons multiples de moyennes pour les deux jeux de données, soit le test de Tukey et le T de Tahmane (pour variances inégales).

Variable	Aération				Plantes			
	Facteur 1	Facteur 2	Tukey	Tahmane	Facteur 1	Facteur 2	Tukey	Tahmane
N <sub>2</sub> O	Typha		B	B	Typha		BC	B
	Phragmites		A	A	Phragmites		A	A
	Non-planté		B	B	Phalaris		C	B
	Aéré		A		Non-planté		AB	AB
	Non-Aéré		B		Typha	Été	A	A
	Été		A	A		Automne	A	A
	Automne		AB	AB		Hiver	A	A
	Hiver		B	B	Phragmites	Été	A	A
						Automne	A	A
						Hiver	A	A
					Phalaris	Été	A	A
						Automne	A	A
						Hiver	A	A
					Non-planté	Été	B	B
						Automne	A	A
						Hiver	A	A
					Été	Typha	A	A
						Phragmites	A	A
						Phalaris	B	B
						Non-planté	A	A
					Automne	Typha	A	A
					Phragmites	A	A	
					Phalaris	A	A	
					Non-planté	A	A	
				Hiver	Typha	A	A	
					Phragmites	A	A	
					Phalaris	A	A	
					Non-planté	A	A	
CO <sub>2</sub>	Typha		A	A	Typha		A	A
	Phragmites		B	B	Phragmites		B	A
	Non-planté		C	C	Phalaris		B	A
	Été		A	A	Non-planté		C	B
	Automne		A	A	Été		A	A
	Hiver		B	B	Automne		B	B
	Typha	Été	A	A	Hiver		B	B
		Automne	A	A	Typha	Été	A	A
		Hiver	B	B		Automne	AB	AB
	Phragmites	Été	A	A		Hiver	B	B
		Automne	A	A	Phragmites	Été	A	A
		Hiver	A	A		Automne	AB	AB
	Non-planté	Été	A	A		Hiver	B	B

	Automne	A	A	Phalaris	Été	A	A
	Hiver	A	A		Automne	B	B
Été	Typha	A	A		Hiver	B	B
	Phragmites	B	A	Non-planté	Été	A	A
	Non-planté	C	B		Automne	A	A
Automne	Typha	A	A		Hiver	A	A
	Phragmites	B	A	Été	Typha	A	A
	Non-planté	C	B		Phragmites	A	A
Hiver	Typha	B	B		Phalaris	A	A
	Phragmites	A	A		Non-planté	B	B
	Non-planté	A	A	Automne	Typha	A	A
Aéré	Été	A	A		Phragmites	AB	AB
	Automne	A	A		Phalaris	B	B
	Hiver	A	A		Non-planté	C	C
Non-Aéré	Été	A	A	Hiver	Typha	A	A
	Automne	AB	AB		Phragmites	AB	AB
	Hiver	B	B		Phalaris	AB	AB
Été	Aéré	B			Non-planté	B	B
	Non-Aéré	A					
Automne	Aéré	A					
	Non-Aéré	A					
Hiver	Aéré	A					
	Non-Aéré	A					
<b>CH4</b>	Typha	B	B	Typha		C	C
	Phragmites	B	B	Phragmites		B	B
	Non-planté	A	A	Phalaris		B	B
	Typha	Aéré	B	Non-planté		A	A
		Non-Aéré	A				
	Phragmites	Aéré	B				
		Non-Aéré	A				
Non-planté	Aéré	B					
	Non-Aéré	A					
Aéré	Typha	A	A				
	Phragmites	A	A				
	Non-planté	A	A				
Non-Aéré	Typha	C	C				
	Phragmites	B	B				
	Non-planté	A	A				
Typha	Été	A	A				
	Automne	A	A				
	Hiver	A	A				
Phragmites	Été	A	A				
	Automne	A	A				
	Hiver	A	A				
Non-planté	Été	A	A				
	Automne	A	A				
	Hiver	A	A				
Été	Typha	B	B				
	Phragmites	B	B				
	Non-planté	A	A				
Automne	Typha	A	A				
	Phragmites	A	A				
	Non-planté	A	A				
Hiver	Typha	A	A				
	Phragmites	A	A				
	Non-planté	A	A				
<b>CO2eq</b>	Typha	B	A	Typha		C	C
	Phragmites	B	A	Phragmites		B	AB
	Non-planté	A	A	Phalaris		B	B
	Typha	Aéré	B	Non-planté		A	A

	Non-Aéré	A		Été	A	A
Phragmites	Aéré	B		Automne	AB	AB
	Non-Aéré	A		Hiver	B	B
Non-planté	Aéré	B				
	Non-Aéré	A				
Aéré	Typha	A	A			
	Phragmites	AB	AB			
	Non-planté	B	B			
Non-Aéré	Typha	C	C			
	Phragmites	B	B			
	Non-planté	A	A			
<b>N2</b>	Typha	A	A	Typha	A	
	Phragmites	B	A	Phragmites	BC	
	Non-planté	A	A	Phalaris	AB	
	Été	C	C	Non-planté	C	
	Automne	B	B	Été	C	
	Hiver	A	A	Automne	B	
	Typha	Aéré	A	Hiver	A	
		Non-Aéré	A			
Phragmites	Aéré	A				
	Non-Aéré	B				
Non-planté	Aéré	A				
	Non-Aéré	B				
Aéré	Typha	B	B			
	Phragmites	B	B			
	Non-planté	A	A			
Non-Aéré	Typha	A	A			
	Phragmites	A	A			
	Non-planté	A	A			

*Analyses – ANOVA et tests de Tukey pour le prélèvement végétal*

Les résultats présentés sont en rapport avec le prélèvement végétal ( $\text{g N m}^{-2} \text{ an}^{-1}$ ).

Mac = macrophytes

Signification : ns =  $p > 0,05$  ; \* =  $p < 0,05$  ; \*\* =  $p < 0,01$  ; \*\*\* =  $p < 0,001$

A = Plus grand prélèvement

				Tukey HSD	
Variable	Terme	F	Sig		
Prélèvement	Modèle	3,0	ns		
	Mac (M)	6,1	*	Typha A	Phrag/Phal B
	Oxygène (O)	0,0	ns		
	M X O	0,6	ns		

*Analyses – Analyses de coefficients de direction pour les flux de nutriments*

Les résultats présentés ici ne sont que les modèles finaux qui ont été retenus pour les flux sortants ou l'exportation de nutriments. Les données non normales ont été transformées par la méthode Box-Cox.

Temp = température ; NP = absence de plantes ; Air = présence d'aération artificielle ; S/A = rapport entre la statistique et A.

- Signification :
- A: Covariance totale (corrélation simple)
  - B: Covariance causale directe (résultat de régression)
  - C: Covariance causale indirecte
  - D: Covariance causale totale
  - A-D: Covariance non causale
  - P : Probabilité que la statistique soit égale à 0.

		TN						
TN		R <sup>2</sup> :	0,63868	P:	0	R <sup>2a</sup> :	0,577	
S=	A	P(A=0)	B	P(B=0)	C	D	A-D	
ETP	-0,56405	0,0001	<b>-0,36281</b>	0,00132	-0,07868	-0,44149	-0,12256	
S/A			0,64323		0,13949	0,78272	0,21728	
Redox	-0,6632	0	<b>-0,45541</b>	0,00023	0	-0,45541	-0,20779	
S/A			0,68669		0	0,68669	0,31331	
TRH	-0,5718	0,00008	<b>-0,23086</b>	0,05112	0	-0,23086	-0,34094	
S/A			0,40374		0	0,40374	0,59626	
Temp	-0,32243	0,0373	0		-0,20139	-0,20139	-0,12103	
S/A			0		0,62462	0,62462	0,37538	
NP	0,43632	0,00387	0		0,34115	0,34115	0,09517	
S/A			0		0,78187	0,78187	0,21813	
Air	-0,48032	0,00129	0		-0,28794	-0,28794	-0,19238	
S/A			0		0,59948	0,59948	0,40052	
		R <sup>2</sup> :	0,46282	P:	0,00001			
S=	A	P(A=0)	B	P(B=0)	C	D	A-D	
Temp	0,45616	0,0024	<b>0,45616</b>	0,00038	0	0,45616	0	
S/A			1		0	1	0	
NP	-0,50472	0,00065	<b>-0,50472</b>	0,00011	0	-0,50472	0	
S/A			1		0	1	0	
		R <sup>2</sup> :	0,43727	P:	0,00001			
S=	A	P(A=0)	B	P(B=0)	C	D	A-D	
NP	-0,20208	0,19935	<b>-0,2598</b>	0,0375	0	-0,2598	0,05772	
S/A			1,28562		0	1,28562	-0,28562	
Air	0,60856	0,00002	<b>0,63227</b>	0,00001	0	0,63227	-0,02372	
S/A			1,03897		0	1,03897	-0,03897	
		R <sup>2</sup> :	0,11616	P:	0,0272			
S=	A	P(A=0)	B	P(B=0)	C	D	A-D	
ETP	0,34082	0,0272	<b>0,34082</b>	0,0272	0	0,34082	0	

S/A			1		0	1	0
Temp	-0,02586	0,87087	0		0,15547	0,15547	-0,18133
S/A			0		-6,01236	-6,01236	7,01236
NP	-0,49857	0,00078	0		-0,17202	-0,17202	-0,32656
S/A			0		0,34502	0,34502	0,65498
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>							
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>		R <sup>2</sup> :	0,79835	P:	0	R <sup>2</sup> a:	0,764
S=	A	P(A=0)	B	P(B=0)	C	D	A-D
ETP	-0,40153	0,0084	0		-0,126	-0,126	-0,27553
S/A			0		0,3138	0,3138	0,6862
Redox	-0,80722	0	<b>-0,60986</b>	0	0	-0,60986	-0,19736
S/A			0,7555		0	0,7555	0,2445
TRH	-0,71241	0	<b>-0,3697</b>	0,00033	0	-0,3697	-0,34271
S/A			0,51894		0	0,51894	0,48106
Temp	-0,28308	0,06928	0		-0,05748	-0,05748	-0,22561
S/A			0		0,20304	0,20304	0,79696
NP	0,41133	0,00681	0,10376	0,225	0,22204	0,3258	0,08553
S/A			0,25227		0,5398	0,79207	0,20793
Air	-0,62026	0,00001	0		-0,3856	-0,3856	-0,23466
S/A			0		0,62167	0,62167	0,37833
<b>ETP</b>							
<b>ETP</b>		R <sup>2</sup> :	0,46282	P:	0,00001		
S=	A	P(A=0)	B	P(B=0)	C	D	A-D
Temp	0,45616	0,0024	<b>0,45616</b>	0,00038	0	0,45616	0
S/A			1		0	1	0
NP	-0,50472	0,00065	<b>-0,50472</b>	0,00011	0	-0,50472	0
S/A			1		0	1	0
<b>Redox</b>							
<b>Redox</b>		R <sup>2</sup> :	0,43727	P:	0,00001		
S=	A	P(A=0)	B	P(B=0)	C	D	A-D
NP	-0,20208	0,19935	<b>-0,2598</b>	0,0375	0	-0,2598	0,05772
S/A			1,28562		0	1,28562	-0,28562
Air	0,60856	0,00002	<b>0,63227</b>	0,00001	0	0,63227	-0,02372
S/A			1,03897		0	1,03897	-0,03897
<b>TRH</b>							
<b>TRH</b>		R <sup>2</sup> :	0,11616	P:	0,0272		
S=	A	P(A=0)	B	P(B=0)	C	D	A-D
ETP	0,34082	0,0272	<b>0,34082</b>	0,0272	0	0,34082	0
S/A			1		0	1	0
Temp	-0,02586	0,87087	0		0,15547	0,15547	-0,18133
S/A			0		-6,01236	-6,01236	7,01236
NP	-0,49857	0,00078	0		-0,17202	-0,17202	-0,32656
S/A			0		0,34502	0,34502	0,65498
<b>NO<sub>y</sub></b>							
<b>NO<sub>y</sub></b>		R <sup>2</sup> :	0,68267	P:	0	R <sup>2</sup> a:	0,628
S=	A	P(A=0)	B	P(B=0)	C	D	A-D
ETP	-0,23937	0,12682	<b>-0,39935</b>	0,00146	0,17476	-0,2246	-0,01477
S/A			1,66837		-0,73008	0,93829	0,06171
Redox	0,44104	0,00346	<b>0,45049</b>	0,00155	0	0,45049	-0,00945
S/A			1,02143		0	1,02143	-0,02143
TRH	0,5993	0,00003	<b>0,51275</b>	0,00021	0	0,51275	0,08654
S/A			0,85559		0	0,85559	0,14441
Temp	-0,27203	0,08137	<b>-0,29815</b>	0,03018	-0,10245	-0,4006	0,12857



S/A			1,09602		0,37662	1,47264	-0,47264
NP	-0,23485	0,13437	0		-0,00368	-0,00368	-0,23117
S/A			0		0,01567	0,01567	0,98433
Air	0,54328	0,0002	0		0,28483	0,28483	0,25845
S/A			0		0,52428	0,52428	0,47572
<b>ETP</b>			R <sup>2</sup> : 0,46282		P: 0,00001		
S=	A	P(A=0)	B	P(B=0)	C	D	A-D
Temp	0,45616	0,0024	<b>0,45616</b>	0,00038	0	0,45616	0
S/A			1		0	1	0
NP	-0,50472	0,00065	<b>-0,50472</b>	0,00011	0	-0,50472	0
S/A			1		0	1	0
<b>Redox</b>			R <sup>2</sup> : 0,43727		P: 0,00001		
S=	A	P(A=0)	B	P(B=0)	C	D	A-D
NP	-0,20208	0,19935	<b>-0,2598</b>	0,0375	0	-0,2598	0,05772
S/A			1,28562		0	1,28562	-0,28562
Air	0,60856	0,00002	<b>0,63227</b>	0,00001	0	0,63227	-0,02372
S/A			1,03897		0	1,03897	-0,03897
<b>TRH</b>			R <sup>2</sup> : 0,11616		P: 0,0272		
S=	A	P(A=0)	B	P(B=0)	C	D	A-D
ETP	0,34082	0,0272	<b>0,34082</b>	0,0272	0	0,34082	0
S/A			1		0	1	0
Temp	-0,02586	0,87087	0		0,15547	0,15547	-0,18133
S/A			0		-6,01236	-6,01236	7,01236
NP	-0,49857	0,00078	0		-0,17202	-0,17202	-0,32656
S/A			0		0,34502	0,34502	0,65498

## Analyses – Analyses canoniques de redondance

Les résultats présentés ici ne sont que ceux pour le modèle final retenu. Les données non normales ont été transformées par la méthode Box-Cox.

<b>Statistiques descriptives</b>					
Axes	1	2	3	4	Variance totale
Valeurs propres	0,282	0,122	0,051	0,032	1
Corrélations espèces-environnement :	0,92	0,87	0,789	0,73	
Cumulative percentage variance					
des données d'espèces :	28,2	40,4	45,5	48,7	
des données espèces-environnement :	52,6	75,5	85	91	
Somme de toutes les valeurs propres :	1				
Somme de toutes les valeurs propres canoniques :	0,535				

<b>Résultats des permutations (999)</b>	
Test de signification du 1er axe canonique :	
Valeurs propres =	0,282
Statistique de F =	27,045
Probabilité =	0,001
Test de signification de tous les axes canoniques :	
Trace =	0,535
Statistique de F =	5,676
Probabilité =	0,001