

Université du Québec
INRS-ETE

Étude des concentrations toxiques de nitrite dans les cours d'eau d'un bassin versant agricole

Par
Julie Corriveau

Thèse de doctorat
en Sciences de l'eau

Jury d'évaluation

Examineur externe	Patricia Chambers Human Impacts on Aquatic Ecosystems Processes Canada Centre for Inland Waters Environment Canada
Examineur externe	Roxane Maranger Département des sciences biologiques Université de Montréal
Examineur interne	Peter Campbell INRS-ETE
Directeur de recherche	Daniel Cluis INRS-ETE
Codirecteur de recherche	Eric van Bochove Agriculture et Agroalimentaire Canada
Codirecteur de recherche	Normand Tassé INRS-ETE

Octobre 2009



Remerciements

J'ai toujours envisagé le doctorat comme une opportunité à saisir afin de me réaliser scientifiquement, professionnellement et personnellement. Avec le recul, je réalise que j'ai eu la chance d'avoir un directeur et des co-directeurs qui m'ont toujours encouragée et guidée dans mes choix durant ces années passées. Merci !

Je remercie mon directeur, Daniel Cluis, de m'avoir donné la chance d'effectuer ce doctorat. Votre appui et votre intérêt ont toujours été appréciés. Vous m'avez également encouragée à diversifier mon expérience de travail et de vie par le biais de travaux dirigés en Ontario et en Australie. Votre soutien a été très apprécié. Je remercie également mon co-directeur, Eric van Bochove, de m'avoir fait confiance, encouragée et dirigée tout au long de ce doctorat. J'ai eu la chance de m'intégrer et de participer à plusieurs projets captivants. Ta grande disponibilité à me rencontrer pour discuter ainsi que tes multiples révisions de mes articles et rapports ont été très appréciées. Pour Normand Tassé, mon co-directeur, ton apport scientifique a su donner une autre dimension à mon projet, je t'en remercie.

Je tiens à remercier Geneviève Bégin et Nadia Goussard pour leur complicité qui m'a grandement soutenue tout au long de ce doctorat. Je ne peux également passer sous silence leur grande aide dans la réalisation des différentes étapes de mes travaux de terrain et de laboratoire, ainsi que le temps et l'énergie consacrés au nom de notre amitié. Le support technique ponctuel et efficace de Georges Thériault et Jean-Thomas Denault a été bien apprécié, par exemple lorsque je faisais irruption dans leurs bureaux avec mes questions de chimie et de gaz ainsi que mes demandes de cartes thématiques. Je remercie également André St-Hilaire pour sa disponibilité à me rencontrer dans de courts délais, sa rigueur et sa patience à répondre à mes nombreuses questions de statistique afin de m'éclairer lors de l'analyse. À ma grande amie Valérie Ouellet, avec qui les nombreuses discussions sur la Vie m'ont remise d'aplomb, je veux te dire merci. De plus, je ne peux que te témoigner toute ma reconnaissance pour ta précieuse aide lors de ma dernière année de doctorat. Plus particulièrement, mes remerciements s'adressent à mon conjoint

et complice, Dominic, qui m'a toujours soutenue dans les décisions que j'ai prises. Il m'a accompagnée tout au long de mon cheminement, avec ses hauts et ses bas, en trouvant les bons mots pour me motiver et en croyant constamment en moi. Eloi et toi êtes la source de mon inspiration et de mon énergie. Et bien sûr aussi, un gros merci à mes parents qui m'ont toujours encouragée, tant sur le plan personnel que professionnel. Les valeurs et l'amour que vous m'avez transmis ont fait de moi la personne que je suis maintenant. Et à mes meilleures sœurs, je les remercie d'être toujours là, prêtes à m'épauler et à plaisanter.

Des remerciements particuliers sont adressés à l'Institut national de la recherche scientifique - Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE) pour son appui et sa contribution financière lors de mes études doctorales. De plus, la réalisation de ce projet a été rendue possible grâce aux supports financiers des projets WEBs – Watershed Evaluation of Beneficial Management Practices et Information Gaps in Water Quality and Nutrients, des programmes de recherche d'Agriculture et Agroalimentaire Canada et de Ressources naturelles Canada.

Avant-propos

Cette thèse de doctorat repose sur l'ensemble de mes travaux de recherche effectués dans le cadre de mes études. La première partie consiste en une synthèse permettant de présenter ces travaux. La synthèse est composée d'une introduction du sujet qui met en évidence la problématique ainsi que le contexte et la pertinence de l'étude, d'une description des objectifs et des hypothèses, d'une présentation des principaux résultats, suivie d'une discussion intégrant ces derniers et finalement, d'une conclusion. La deuxième partie de la thèse présente l'intégralité des résultats, des discussions et des conclusions des travaux de doctorat sous la forme de trois articles publiés ou soumis à des revues avec comités de lecture. De plus, un résumé en français précède chacun de ces articles écrits en anglais.

La contribution des différents auteurs pour chaque article est établie comme suit :

Corriveau, J., van Bochove, E., Bégin, G. and Cluis, D. 2008. Effect of preservation techniques on the determination of nitrite in freshwater samples. *Water, Air and Soil Pollution* 193: 335-342.

- Julie Corriveau : Conception et réalisation du projet (échantillonnage, analyses, traitements et interprétations des données), rédaction initiale et finale de l'article.
- Eric van Bochove : Révision de l'article initial et final
- Geneviève Bégin : Application du projet (échantillonnage et analyses), révision de l'article.
- Daniel Cluis : Révision de l'article

Corriveau, J., van Bochove, E., Savard, M.M., Cluis, D and Paradis, D. 2009. Occurrence of high in-stream nitrite levels in a temperate region agricultural watershed. *Water, Air and Soil Pollution* DOI 10.1007/s11270-009-0109-6.

- Julie Corriveau : Conception et réalisation du projet (échantillonnage, analyses, traitements et interprétations des données), rédaction initiale et finale de l'article.
- Eric van Bochove : Assistance dans l'interprétation des données, la rédaction initiale et finale de l'article.
- Martine M. Savard : Révision de l'article
- Daniel Cluis : Révision de l'article
- Daniel Paradis : Révision de l'article

Corriveau, J., van Bochove, E. and Cluis, D. 2009. Sources of nitrite in streams of an intensively cropped watershed (accepter *Water Environment Research*).

- Julie Corriveau : Conception et réalisation du projet (échantillonnage, analyses, traitements et interprétations des données), rédaction initiale et finale de l'article.
- Eric van Bochove : Assistance dans l'interprétation des données, la rédaction initiale et finale de l'article.
- Daniel Cluis : Révision de l'article

Résumé

De nombreux rapports et études abordent la problématique de l'enrichissement des eaux douces par l'azote et font état d'un suivi de la qualité de l'eau dans les grandes rivières, celles qui façonnent le paysage d'une région. Toutefois, les petits cours d'eau en amont ont un rôle prépondérant sur les écosystèmes situés en aval du réseau hydrographique puisqu'ils ont la capacité de retenir et transformer d'importantes quantités d'azote inorganique et organique. En milieu agricole, leurs impacts sont d'autant plus importants que l'épandage des fertilisants organiques et minéraux reliés aux activités agricoles engendre un excédant de nutriments dans les sols par rapport aux besoins des cultures. Cet excédent aboutit dans les ruisseaux et les rivières principalement sous la forme de NO_3^- et NH_4^+ pour l'azote, et de PO_4^{3-} pour le phosphore. Le nitrite, un anion également présent dans l'environnement, est typiquement négligé dans les études de qualité de l'eau. En effet, il est généralement admis que le nitrite s'oxyde facilement en nitrate et qu'en conséquence, en étant transitoire, il se retrouve rarement en concentration importante dans les eaux naturelles. De plus, la concentration de NO_2^- est très souvent intégrée dans la valeur mesurée de NO_3^- . Cette détermination de la concentration du couple nitrate+nitrite a pour conséquence directe de masquer l'importance de la présence et de la variation du nitrite dans le cours d'eau, puisque la concentration en nitrate est généralement 100 fois supérieure à celle en nitrite. Par conséquent, il devient difficile de faire le suivi de cet anion très toxique pour les organismes vivant dans l'environnement.

Il y a conscientisation graduelle de la problématique entourant la présence et l'accumulation du nitrite toxique dans les cours d'eau. En effet, plusieurs suivis de la qualité de l'eau effectués depuis plus de 20 ans en Europe font état de la présence et de l'accumulation de nitrite dans les rivières. Toutefois, à notre connaissance, aucun suivi ni étude sur la qualité de l'eau au Québec et au Canada ne fait état de ce problème dans l'eau de surface, souterraine et de drainage. Dans un premier temps, notre étude vise à valider les procédures standards de laboratoires afin d'établir une technique de conservation adéquate des échantillons d'eau pour l'analyse de nitrite et mettre en garde les expérimentateurs analysant la concentration de nitrite total seul plutôt que la

concentration de nitrate et nitrite combinée afin d'éviter les erreurs analytiques inhérentes au mode de conservation. Dans un second temps, les travaux réalisés visent à préciser la problématique reliée à la présence et la variabilité des fortes concentrations en nitrite dans les cours d'eau d'un bassin versant agricole de la région de Québec, Canada. Les suivis réalisés démontrent clairement que les échantillons d'eau collectés dans les deux principaux cours d'eau situés dans des zones de cultures intensives présentent de fortes concentrations en nitrite, qui dépassent régulièrement les critères de qualité de l'eau pour la protection de la vie aquatique établis par le Ministère de l'environnement du Québec. De plus, il a été observé que les niveaux de nitrite, mesurés à l'exutoire du bassin versant, ne sont pas représentatifs de la variabilité des concentrations mesurées en amont à l'intérieur du micro-bassin versant. Finalement, les travaux de cette thèse visent à évaluer la dynamique des différentes formes de N en relation avec leur transport de l'amont vers l'aval afin d'établir les sources des fortes concentrations de nitrite observées dans les cours d'eau du bassin versant. L'eau de résurgence et celle des drains agricoles constituent d'importantes sources de N dans les deux cours d'eau, qui varient en importance à l'intérieur du bassin versant en fonction du régime hydrologique. Les analyses de l'eau de résurgence permettent de mettre en évidence une importante activité réductrice dans les sédiments, menant à la consommation de NO_3^- et à de fortes concentrations en NH_4^+ et NO_2^- . Nous suggérons que les différences de concentration en NO_3^- dans l'eau souterraine qui alimentent chaque cours d'eau sont susceptibles d'influencer les concentrations en NH_4^+ et NO_2^- observées dans l'eau de résurgence, pouvant éventuellement mener à la formation et à l'accumulation de NO_2^- dans l'eau de surface. Ces nouvelles connaissances démontrent la nécessité de diminuer les excès de fertilisation azotée sur les terres agricoles responsable de la contamination en nitrate de l'aquifère superficiel, et ainsi diminuer la présence des pointes de concentrations toxiques de nitrite dans l'eau de surface.

Table des matières

Remerciements	iii
Avant-propos	v
Résumé	vii
Table des matières	ix
Liste des figures	xi
Liste des tableaux	xiii
Section 1 : Synthèse	1
1. Introduction	3
1.1 Le nitrite dans l'environnement	3
1.2 Formation du nitrite	5
1.3 Critères de qualité de l'eau du nitrite	8
1.4 La toxicité du nitrite	9
1.5 Mise en contexte et pertinence de l'étude	12
2. Objectifs et hypothèses	15
2.1 Conservation des échantillons de nitrite	15
2.2 Suivi des concentrations de nitrite	15
2.3 Sources de nitrite	16
3. Matériel et méthodes	17
3.1 Sites et périodes d'étude	17
3.2 Protocoles d'échantillonnage et d'analyses	18
3.2.1 Eau	18
3.2.2 Sédiments	21
3.2.3 Gaz dissous	21
3.3 Échantillonnage de l'eau de résurgence	21
3.4 Mesures de débit	22
3.4.1 Exutoire	22
3.4.2 Drains agricoles	23
3.4.3 Résurgence	23
4. Résultats et discussion	25
4.1 Importance d'une technique de conservation adéquate	25
4.2 Caractérisation des pointes de nitrite	26
4.3 Sources de nitrite dans les cours d'eau	29
5. Conclusions	33
6. Perspectives de recherche	35
6.1 L'utilisation du ¹⁵ N	35
6.2 Autres sources de N	35
7. Références	37

Section 2 : Articles	49
8. Article 1 : Effets des différentes techniques de préservation sur la détermination de la concentration en nitrite dans les échantillons d'eau douce	51
9. Article 2: Présence de fortes concentrations en nitrite dans les cours d'eau d'un bassin versant agricole d'une région tempérée	61
10. Article 3: Sources de nitrite dans les cours d'eau d'un bassin versant en culture intensive	77
Section 3 : Annexes.....	117
11. Annexe A: Données brutes des concentrations de nitrite mesurées lors de l'évaluation des effets de la filtration, de la congélation et de réfrigération sur la conservation des échantillons d'eau douces, et ayant servies à la rédaction du chapitre 8 de cette thèse.....	119
12. Annexe B: Données brutes des différents paramètres de qualité de l'eau mesurés dans l'eau de surface des branches 15, 14 et 55 du micro-bassin versant du Bras d'Henri lors des campagnes d'échantillonnage de 2005 à 2007, et ayant servies à la rédaction des chapitres 9 et 10 de cette thèse.	125
13. Annexe C: Données brutes des différents paramètres de qualité de l'eau mesurés dans l'eau de souterraine des piézomètres P3 et P9 du micro-bassin versant du Bras d'Henri lors des campagnes d'échantillonnage de 2006 à 2007, et ayant servies à la rédaction du chapitre 9 cette thèse.	131
14. Annexe D: Données brutes des différents paramètres de qualité de l'eau mesurés dans l'eau de résurgence des branches 15 et 14 du micro-bassin versant du Bras d'Henri lors des campagnes d'échantillonnage de l'été d'été et de la recharge automnale 2006, et ayant servies à la rédaction de chapitre 10 de cette thèse.	135

Liste des figures

- Figure 1 : Schéma global décrivant la compartimentation des différents processus impliqués dans la formation du NO_2^- à l'intérieur des sédiments d'un cours d'eau (adapté de Stief *et al.*, 2002)..... 8
- Figure 2 : Carte de la région d'étude démontrant l'emplacement du bassin versant du Bras d'Henri dans le bassin versant de la rivière Chaudière. 13
- Figure 3 : Carte montrant la localisation des différents points d'échantillonnage pour l'eau de surface, eau des drains agricoles, eau de résurgence et eau de l'aquifère au sein des trois cours d'eau localisés à l'intérieur du micro-bassin versant du Bras d'Henri..... 20
- Figure 4 : Schéma du dispositif utilisé pour échantillonner l'eau de résurgence dans les sédiments du cours d'eau. 22



Liste des tableaux

Tableau 1 : Calendrier de la collecte des échantillons d'eau pour la durée de la présente étude, de l'étiage d'été 2005 à la fonte printanière 2007, en spécifiant la période et le nombre de journées d'échantillonnage (n) pour chaque régime hydrologique. 19

SECTION 1 : SYNTHÈSE



1. Introduction

1.1 Le nitrite dans l'environnement

Au cours des dernières décennies, l'intensification de l'agriculture a engendré une utilisation massive de fertilisants minéraux et organiques afin de maximiser le rendement des différentes cultures et augmenter la production animale pour satisfaire la demande croissante d'une population en expansion démographique et économique. L'application de ces fertilisants génère des excédents de nutriments sur les terres agricoles qui cheminent vers les écosystèmes aquatiques par ruissellement hypodermique et de surface ainsi que par drainage vers la nappe phréatique. L'enrichissement en azote (N) et en phosphore (P) généré par ces excédents de nutriments perturbe l'équilibre des écosystèmes aquatiques en modifiant les propriétés physiques, chimiques et biologiques inhérentes aux cours d'eau en milieu agricole. La dégradation de la qualité de l'eau dans les petits cours d'eau et les fossés en bordure des champs peut avoir un impact important sur les écosystèmes situés en aval du réseau hydrographique. Les petits cours d'eau situés en amont du bassin versant ont la capacité de retenir et de transformer d'importantes quantités d'azote inorganique, puisque le ratio élevé de la superficie des terres par rapport au volume des cours d'eau favorise une incorporation et une transformation rapide de l'azote (Peterson *et al.*, 2001). Toutefois, la capacité de ces cours d'eau à retenir et à transformer les apports d'azote devient beaucoup plus faible lorsque la charge en N est trop importante, ce qui génère une importante exportation de l'azote dans le réseau hydrographique (Peterson *et al.*, 2001; Mulholland *et al.*, 2008).

Il y a de nombreux rapports et études, portant sur le suivi de la qualité de l'eau dans les rivières et les lacs à travers le monde, qui témoignent d'une conscientisation globale face à l'enrichissement des eaux douces par les excès de nutriments et la perturbation des écosystèmes aquatiques. Ces suivis de la qualité de l'eau abordent généralement la problématique de l'enrichissement en N en s'attardant principalement aux teneurs en nitrate (NO_3^-) et en ammonium (NH_4^+). Le NO_3^- est soluble dans l'eau et relativement stable dans l'environnement. Cet ion chemine de la surface des

sols agricoles aux cours d'eau par infiltration via la nappe phréatique et/ou par ruissellement vers le cours d'eau. Le NH_4^+ est un ion adsorbé sur les sites d'échanges cationiques à la surface des argiles et de la matière organique contenus dans les sols. Il peut être converti en NO_3^- par les bactéries nitrifiantes du sol. Le NH_4^+ retenu sur les argiles et la matière organique freine son infiltration dans le sol. Il est plutôt transporté vers les cours d'eau lié aux sédiments par ruissellement et érosion hydrique des sols. Le nitrite (NO_2^-), comme le nitrate et l'ammonium, est un ion naturellement présent dans l'environnement qui s'accumule¹ rarement dans les écosystèmes terrestres et aquatiques lorsque la pollution est absente (Paul et Clarke, 1996). La concentration moyenne mondiale de NO_2^- dans l'eau non polluée est estimée à $0,001 \text{ mg N L}^{-1}$ (Meybeck, 1982). De plus, il est généralement admis que le nitrite est une molécule transitoire dans l'environnement et qu'il s'oxyde rapidement en nitrate (Paul et Clarke, 1989; Hébert et Légaré, 2000). Ainsi, la détermination de la concentration spécifique de nitrite est généralement négligée, en étant incluse dans l'analyse de NO_3^- effectuée lors des suivis de qualité de l'eau. Toutefois, la détermination de la concentration du couple nitrite plus nitrate ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$), plutôt que de la concentration de nitrite totale (NO_2^-), a comme conséquence directe de masquer l'importance des fluctuations de nitrite, qui sont généralement 100 fois inférieures aux concentrations de nitrate. Il devient donc difficile de faire l'étude de cet ion qui est très toxique pour les organismes vivants dans les écosystèmes aquatiques (Eddy and Williams, 1987; Kelso *et al.*, 1999; Kroupova *et al.*, 2005).

La distinction nitrate/nitrite à l'analyse a permis à de nombreuses études effectuées en Europe de démontrer la présence de fortes concentrations de NO_2^- dans plusieurs rivières polluées. Meybeck (1982) a rapporté des valeurs de l'ordre de $0,008$ à $0,017 \text{ mg N L}^{-1}$ dans les rivières du Rhin et du Rhône en Suisse. En 1991, Burns *et al.* (1995) ont observé des concentrations en nitrite variant de $0,004$ à $0,172 \text{ mg N L}^{-1}$ dans les six principales rivières du bassin versant Lough Neagh en Irlande du Nord. Dans le même bassin versant, Smith *et al.* (1995) ont rapporté des concentrations moyennes de nitrite, pour six rivières, variant de $0,34$ à $0,64 \text{ mg N L}^{-1}$ en 1991 et 1992. Von der Wiesche et Wetzel (1998) ont observé des concentrations de NO_2^- variant de $0,15$ à $0,25 \text{ mg N L}^{-1}$ dans la rivière Lahn en Allemagne. À Bologne, en Italie, Turtura et De Pascale (1991) ont

¹ L'accumulation de nitrite est définie par une forte concentration observée dans le cours d'eau à un moment donné et susceptible de se répéter dans le temps.

effectué un suivi de la qualité de l'eau pendant trois ans et ont rapporté des concentrations de NO_2^- variant de 0,01 à 2,05 mg N L^{-1} pour trois cours d'eau servant à l'irrigation. Ainsi, les fortes concentrations de NO_2^- observées dans les cours d'eau sillonnant un environnement agricole semblent reliées aux importants apports de substrats azotés provenant des activités anthropiques inhérentes à ce milieu (Kelso *et al.*, 1997).

1.2 Formation du nitrite

Le nitrite est le produit intermédiaire de plusieurs réactions d'oxydation et de réduction impliquées dans les différents processus de transformation de l'azote. Trois processus réactionnels sont principalement responsables de la présence de nitrite dans les cours d'eau : la nitrification, la dénitrification et la réduction dissimilatrice du nitrate en ammonium par. Ce dernier processus consiste en la réduction du NO_3^- en NH_4^+ par fermentation ou par couplage avec l'oxydation de sulfite en sulfate (Burgin et Hamilton, 2008). Il est souvent qualifié par son acronyme anglais DNRA (dissimilatory nitrate reduction to ammonium).

La nitrification est un processus qui transforme l'ammonium en nitrate par deux réactions d'oxydation successives. Les bactéries autotrophes du genre *Nitrosomonas* réalisent la nitrification en oxydant l'ammonium en nitrite, alors que les bactéries autotrophes du genre *Nitrobacter* réalisent la nitrification en oxydant le nitrite en nitrate. Ces deux réactions d'oxydation sont catalysées par leur enzyme spécifique, qui répond différemment aux conditions physico-chimiques ambiantes. Conséquemment, l'accumulation de NO_2^- se produit lorsque le taux d'oxydation de NH_4^+ est plus élevé que le taux d'oxydation du NO_2^- . Plusieurs facteurs environnementaux dont les effets combinés sont complexes influencent le taux d'oxydation des deux réactions. Les concentrations en NH_4^+ et NH_3 libre, le pH, la température, l'oxygène dissous (OD), le rayonnement ultraviolet, l'importance des populations bactériennes et le substrat disponible sont parmi les facteurs les plus étudiés. Anthonisen (1976) a constaté qu'une concentration en NH_3 libre de 10 à 150 mg L^{-1} et de 0.1 à 1.0 mg L^{-1} inhibe respectivement les bactéries *Nitrosomonas* et *Nitrobacter*. Balmelle *et al.* (1992) ont démontré que l'activité de *Nitrobacter*, lors du traitement biologique des eaux usées, est inhibée par la présence de NH_3 libre et la température. Alleman (1984) a rapporté que la conversion de NO_2^- en NO_3^- dans les

installations de traitement des eaux usées est inhibée par la présence de NH_3 libre, un pH élevé et un faible OD. Bae *et al.* (2002) ont également confirmé que l'accumulation de nitrite est particulièrement affectée par la concentration en NH_3 libre et OD, le pH et la température.

Contrairement à la nitrification, la dénitrification et la DNRA sont deux processus réactionnels responsables de la formation et de l'accumulation de nitrite en milieu d'anoxie. La dénitrification consiste en la transformation du nitrate en diazote (N_2) ou en protoxyde d'azote (N_2O) par une série de réactions de réduction. Les bactéries dénitrifiantes sont hétérotrophes. Elles métabolisent le NO_3^- en l'utilisant comme accepteur d'électron dans la chaîne respiratoire. D'un autre côté, la DNRA est effectuée par des bactéries fermentaires anaérobies strictes, anaérobies facultatives et aérobies qui utilisent le NO_3^- comme source d'électron. Le nitrate est ainsi transformé en ammonium par une série de réactions de réduction. Le ratio entre la disponibilité du substrat en carbone et en azote est déterminant dans la répartition de la contribution relative des deux processus. Ainsi, la DNRA est favorisée lorsque l'environnement est limité en nitrate, alors que la dénitrification est favorisée lorsque le carbone est peu disponible (Tiedje *et al.*, 1982). La cinétique de croissance et la densité des populations bactériennes sont également des facteurs déterminants dans la compétition entre la dénitrification et la DNRA (Kuenen et Robertson, 1988). Pour ces deux processus, l'accumulation de NO_2^- est susceptible de se produire lorsque la réduction du NO_3^- s'effectue à un taux supérieur au taux de réduction du NO_2^- . Il est généralement admis que l'accumulation de nitrite est plus commune lors de la DNRA que lors de la dénitrification puisque la NO_2^- réductase des bactéries dénitrifiantes a une plus grande affinité pour le NO_2^- que celle des bactéries fermentaires (Paul et Beauchamp, 1989). Toutefois, plusieurs facteurs environnementaux ainsi que leurs complexes interactions influencent différemment les enzymes réductrices catalysant les différentes étapes de ces deux processus réactionnels. La présence de traces d'oxygène est déterminante sur l'activité des réductases fermentaires de nitrate et de nitrite de la DNRA ainsi que sur celle des enzymes réductrices de la dénitrification (Coles, 1988). Différentes études ont rapporté que la réduction du NO_3^- lors de la dénitrification est moins sensible aux conditions extrêmes comparativement aux réactions de réduction du NO_2^- et du N_2O de la DNRA. Les facteurs du milieu les plus étudiés sont la concentration en NO_3^- , le pH et la température. La présence de fortes concentrations de NO_3^- est susceptible d'influencer l'activité des réductases de NO_2^- , de NO (oxyde nitrique) et N_2O , inhibant ou retardant le

supérieure des sédiments. De plus, le NO_2^- peut également être formé par la nitrification dans la couche superficielle des sédiments en utilisant le NH_4^+ présent et ainsi, s'accumuler et diffuser vers l'eau de surface et/ou la couche de sédiments en zone anoxique. Le NO_3^- produit au sein de la couche superficielle par nitrification est également susceptible de servir de précurseur aux processus réducteurs lorsqu'il diffuse vers la couche inférieure des sédiments. Il est important de mentionner que le NH_4^+ et le NO_3^- présents ou formés dans les sédiments peuvent être assimilés dans la biomasse puis, reminéralisés en NH_4^+ lors de la dégradation de la biomasse.

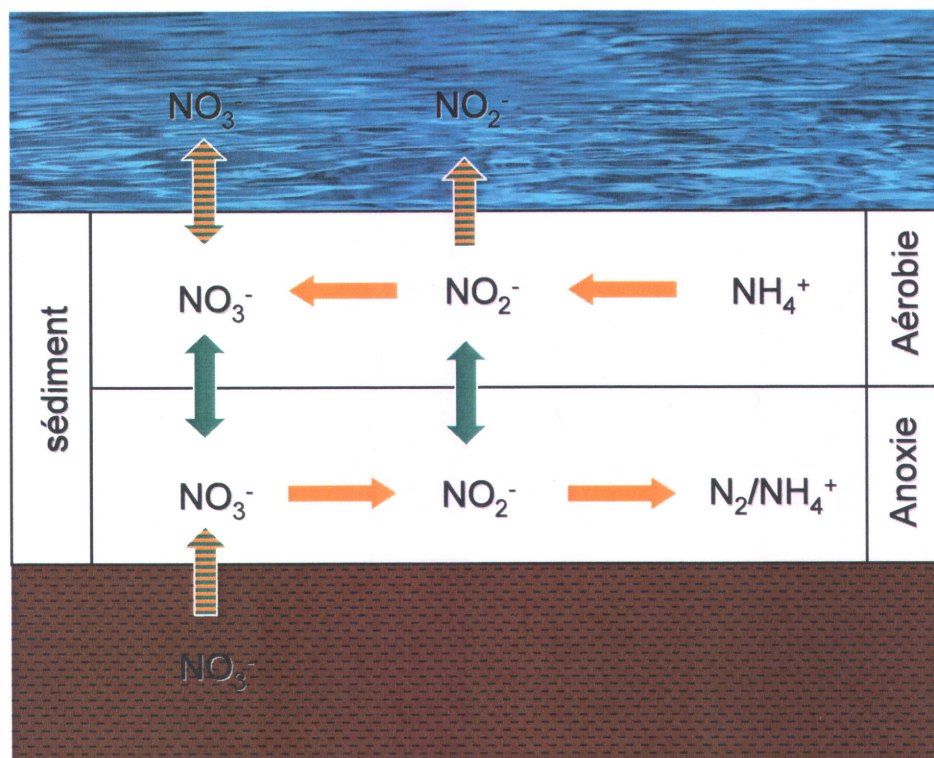


Figure 1 : Schéma global décrivant la compartimentation des différents processus impliqués dans la formation du NO_2^- à l'intérieur des sédiments d'un cours d'eau (adapté de Stief *et al.*, 2002).

1.3 Critères de qualité de l'eau du nitrite

Les gouvernements du Canada et du Québec ont établi des normes pour le nitrite contenu dans l'eau potable à $1,0 \text{ mg N L}^{-1}$, et à 10 mg N L^{-1} lorsque le couple NO_3^- et NO_2^- est considéré (Santé et bien-être social Canada, 1997; Ministère de l'environnement et de la faune, 1998; Conseil

processus de dénitrification (Payne et Riley, 1969 ; Georges et Antoine, 1982). Le pH ainsi que son interaction avec la température influencent les optimums de réaction et le produit final de la dénitrification. Généralement, il est rapporté qu'à pH acide ($\text{pH} < 7$), l'activité des réductases de NO_2^- , de NO et N_2O de la dénitrification est inhibée ou retardée (Bremner et Shaw, 1958; Georges et Antoine, 1982 ; Knowles, 1982). Pour la DNRA, il a été rapporté que certaines bactéries procèdent simultanément à la réduction du nitrate et du nitrite, tandis que certaines autres accumulent le NO_2^- jusqu'à la réduction totale du NO_3^- dans le milieu (Smith et Zimmerman, 1981 ; Smith, 1982; Coles, 1988). Cela est probablement induit par un taux différentiel de synthèse des différentes enzymes réductrices ou une inhibition de l'activité réductrice du NO_2^- par le NO_3^- (Smith, 1982). Lors de la DNRA, la présence de sulfites est également susceptible d'inhiber la réduction du NO_2^- en NH_4^+ (Smith, 1982).

Dans les cours d'eau en milieu agricole, les sédiments jouent un rôle prépondérant dans la formation et l'accumulation du nitrite dans l'eau de surface, comparativement à la colonne d'eau, où l'activité biologique est potentiellement plus limitée à cause de la faible disponibilité de surface de substrat et de l'inhibition des différents processus par la lumière (Vanzella *et al.*, 1990; Hargreaves, 1998). En effet, une étude en Irlande du Nord a révélé que 60% de la contribution en nitrite retrouvée dans l'eau de surface provient de la transformation de l'azote à l'interface sédiment-eau du système fluvial (Smith *et al.*, 1995). La nitrification, la dénitrification ainsi que la DNRA sont intimement liés à cette interface. Ces processus opèrent simultanément dans des zones adjacentes d'oxydation et de réduction, telles que des couches sédiments superposés et des microsites. La figure 1 montre un schéma global des différents processus microbiens de formation du NO_2^- dans un cours d'eau. Les sédiments d'un cours d'eau sont généralement constitués d'une couche superficielle en milieu aérobie et d'une couche inférieure en milieu anoxique. La pénétration de l'oxygène dans les sédiments est déterminante dans la régulation des différents processus d'oxydation et de réductions menant à la formation de nitrite. Ainsi, l'eau de surface polluée en nitrate est susceptible de pénétrer la couche superficielle des sédiments par diffusion ou advection, tandis que l'eau d'un aquifère contaminé en nitrate peut remonter vers le cours d'eau en passant au travers des sédiments en zone anoxique. Dans les deux cas, le NO_3^- sert de précurseur à la formation de NO_2^- lors de la dénitrification ou la DNRA dans la couche inférieure. Le NO_2^- ainsi produit est susceptible de s'accumuler et de diffuser vers la couche

canadien des ministres de l'environnement, 2007). Ces concentrations sont définies afin de protéger l'eau, ainsi que les organismes aquatiques de toute contamination pouvant nuire à la santé humaine dans leur consommation actuelle ou future. Le Québec a également émis des critères visant à protéger la vie aquatique exposée au nitrite (Ministère de l'environnement et de la faune, 1998). Une concentration en nitrite de $0,02 \text{ mg N L}^{-1}$ a été déterminée comme la limite maximale pour une exposition chronique n'ayant aucun effet néfaste sur les organismes aquatiques et leur progéniture pendant leur cycle de vie. Une concentration en nitrite de $0,06 \text{ mg N L}^{-1}$ a été définie comme la concentration maximale pour une exposition aiguë de courte durée sans gravement affecter l'organisme aquatique exposé. Par comparaison, la communauté européenne a établi un critère de qualité de l'eau pour le nitrite dans l'eau potable à $0,03 \text{ mg N L}^{-1}$ (European Economic Community, 1980; European Community, 1998). Pour les rivières soutenant des populations de salmonidés et les espèces de poissons communes, la concentration maximale acceptable de nitrite a respectivement été déterminée à $0,003$ et $0,009 \text{ mg N L}^{-1}$ (European Economic Community, 1978; European Community, 2006). Depuis plusieurs décennies, il y a une conscientisation autour de la présence de fortes concentrations en nitrite dans les cours d'eau situés en Europe. Il est possible que cette tendance soit à l'origine de critères de qualité de l'eau plus sévères en Europe qu'au Québec. Toutefois, il est important de noter que les critères définis pour le nitrite ne représentent qu'une exigence minimale servant à définir le niveau d'assainissement nécessaire ou à évaluer la qualité de l'eau (Ministère de l'environnement et de la faune, 1998).

1.4 La toxicité du nitrite

Le nitrite est très toxique comparativement au nitrate qui est relativement non toxique. Toutefois, le nitrate ingéré est susceptible d'être réduit en nitrite par les bactéries du tractus gastro-intestinal. Chez l'humain, l'effet critique lié à l'ingestion directe du NO_2^- et/ou produit par conversion endogène du NO_3^- est la méthémoglobinémie. La méthémoglobinémie est causée par la capacité réduite du sang à transporter l'oxygène dans l'ensemble de l'organisme. Le nitrite ingéré est absorbé dans le système sanguin et réagit avec l'hémoglobine dans les érythrocytes pour former la méthémoglobine. Cette molécule résulte de l'oxydation du fer (II) contenu dans la molécule d'hémoglobine en fer (III), ce qui rend inopérant le transport de l'oxygène vers les tissus par

l'hémoglobine. Une méthémoglobinémie modérée (<30% de l'hémoglobine oxydée) peut provoquer des nausées et des maux de tête, tandis qu'une méthémoglobinémie sévère (>50% de l'hémoglobine oxydée) est susceptible de provoquer la mort (Boink et Speijers, 2001). Les concentrations critiques de nitrite et nitrate susceptible d'induire la formation de méthémoglobine chez les humains ont été établies entre 0,3 à 2,5 mg N-NO₂⁻ et 10 à 76 mg N-NO₃⁻ ingérés par kilogramme de poids corporel (Bruning-Fann et Kaneene, 1993). Les concentrations létales de nitrite et de nitrate rapportées pour les humains varient de 10 à 76 mg N-NO₂⁻ et 15 à 188 mg N-NO₃⁻ ingérés par kilogramme de poids corporel (Bruning-Fann et Kaneene, 1993). La sous population la plus sensible à la méthémoglobinémie est celle des nourrissons de moins de 3 mois (Santé et bien-être social Canada, 1997). Bien que des études animales suggèrent que le nitrite peut traverser le placenta ou exercer un effet transplacentaire, de plus amples travaux sont nécessaires afin d'évaluer l'importance de l'ingestion de NO₃⁻ et NO₂⁻ par la mère sur la santé du fœtus (Bruning-Fann et Kaneene, 1993). Il est important de mentionner que le nitrite et le nitrate sont classifiés comme possiblement cancérigènes pour l'humain. Des études épidémiologiques ont démontré une association entre la présence de ces ions dans l'eau potable et le cancer de l'estomac. Toutefois, le peu de données disponibles ne permet pas d'établir un solide lien de causalité entre ces deux facteurs (Santé et bien-être social Canada, 1997; Boink et Speijers, 2001).

La toxicité du nitrite se fait également ressentir chez les poissons, puisque la plupart des espèces forment de la méthémoglobine en présence de nitrite. Toutefois, plusieurs études ont aussi démontré qu'en absence de nitrite dans l'environnement, diverses espèces de poisson peuvent avoir un niveau de méthémoglobine variant entre 0 et 10% (Beutler, 1968; Cameron, 1971; Brown et McLeay, 1975; Smith et Russo, 1975) et tout niveau de méthémoglobine supérieur à ce seuil est considéré comme exceptionnel (Lewis et Morris, 1986). Il a été démontré que certaines espèces de saumons et de truites exposées à des concentrations de nitrite élevées, entre 0,15 et 0,55 mg N L⁻¹, présentent une coloration chocolatée du sang et des ouïes (Smith et William, 1974; Westin, 1974). Brown et McLeay (1975) ont constaté que les truites arc-en-ciel juvéniles (*Oncorhynchus mykiss*) présentent un taux de 20% de méthémoglobine pour une concentration en nitrite variant de 0,05 à 0,10 mg N L⁻¹ et de 80% pour une concentration de 0,10 à 0,20 mg N-NO₂ L⁻¹, ce qui est susceptible d'induire des effets sub-létaux. Westin (1974) et Russo

et al. (1974) ont constaté peu de changement dans la mortalité des poissons après une période de 5 à 7 jours, suggérant le développement d'une résistance interne après un certain temps. Wedemeyer et Yasutake (1978) n'ont observé aucun changement significatif de la croissance chez les truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) après une exposition de six mois à une concentration de nitrite à 10% de la concentration suffisante pour tuer 50% des poissons en 96 heures (96-h LC50). Thurston *et al.* (1978) ont constaté que les truites fardées (*Oncorhynchus clarki*) ne présentaient aucune mortalité lorsqu'elles étaient exposées pendant 36 jours à une concentration en nitrite variant de 0.2 à 0.25 mg N L⁻¹. En opposition, Bowser *et al.* (1983) ont constaté un ralentissement significatif de la croissance des barbues de rivière (*Ictalurus punctatus*) lors d'une exposition prolongée à 20% de la 96-h LC50 en nitrite. Le niveau de méthémoglobine nécessaire pour tuer, réduire la croissance ou engendrer un comportement anormal varie selon les espèces de poissons et les environnements. Il est également possible que les poissons empoisonnés par le nitrite succombent à une réaction toxique du nitrite plutôt que de méthémoglobinémie (Smith et William, 1974). Toutefois, aucune étude concluante, quant aux possibles mécanismes alternatifs de toxicité du nitrite, n'a été effectuée. Huey et Beitinger (1980) ont démontré que les larves de salamandres (*Ambystoma*) sont très sensibles à la formation de méthémoglobine induisant une concentration 96-h LC50 à 0.33 mg N-NO₂⁻ L⁻¹. Kahlert et Neumann (1997) ont montré qu'une concentration en nitrite, variant de 0.75 à 1.5 mg N L⁻¹, provoque une diminution du taux d'éclosion et le développement de malformations chez les éponges d'eaux douces. Neumann *et al.* (2001) ont constaté que le développement des larves de *Chironomus* est ralenti lorsqu'elles sont exposées à une concentration en nitrite de 0.15 mg N L⁻¹, induisant ainsi un taux de mortalité de 7% à 0.3 mg N L⁻¹ et de 96% à 0.46 mg N L⁻¹. Bien que les réponses de toxicité du nitrite et du nitrate aient été étudiées sur différents organismes depuis un bon nombre d'années, la diversité des résultats démontre que chaque espèce réagit différemment. De plus, la toxicité du nitrite sur les différents organismes aquatiques est influencée par les différents facteurs environnementaux comme le calcium (Wedemeyer et Yasutake, 1978), le pH (Russo *et al.*, 1981; Kahlert et Neumann, 1997), l'alcalinité (Huey *et al.*, 1980) et les chlorures (Crawford et Allen, 1977; Perrone et Meade, 1977; Tomasso *et al.*, 1979; Huey et Beitinger, 1980).

1.5 Mise en contexte et pertinence de l'étude

Cette thèse de doctorat s'insère dans le cadre du projet d'évaluation des pratiques de gestion bénéfiques à l'échelle des bassins hydrographiques (Watershed Evaluation of Beneficial Management Practices) initié par Agriculture et Agroalimentaire Canada. Ce projet interdisciplinaire vise à élaborer et à promouvoir des pratiques de gestion bénéfique afin de favoriser la santé et le bon fonctionnement des zones riveraines, de protéger l'habitat et de préserver la qualité de l'eau en milieu agricole (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 2008). Le réseau hydrographique étudié, dans le cadre de ce projet d'envergure nationale, est le bassin versant du Bras d'Henri situé dans la région agro-climatique Chaudière-Appalaches, au sud de Québec (Fig.2). Le Bras d'Henri occupe un bassin versant d'une superficie approximative de 158 km², caractérisé par une production de cultures intensives et une forte densité d'élevage (van Bochove *et al.*, 2005). Depuis les dernières années, cette région est marquée par une augmentation des superficies cultivées, une homogénéisation des cultures, ainsi que par une intensification de la production porcine générant de grandes quantités de fertilisant d'origine animale ainsi que des surplus de nutriments par rapport aux besoins des cultures. En conséquence, le potentiel de contamination diffuse de l'eau engendré par les activités agricoles de la région s'intensifie constamment. Dans cette perspective, un suivi de la qualité de l'eau ayant pour objectifs la gestion des nutriments, du ruissellement et de l'érosion hydrique des sols a été initié dans un micro-bassin versant de 2.4 km² localisé à l'intérieur du bassin versant du Bras d'Henri. Le micro-bassin versant comporte de nombreux petits cours d'eau très dynamiques creusés en bordure des champs dans les années 70. Ces cours d'eau sont caractérisés par des berges instables, une ligne d'écoulement de l'eau très inférieure au haut de la berge et une pente abrupte. Les fertilisants épandus à la surface des terres en culture génèrent des pertes d'éléments nutritifs qui rejoignent les cours d'eau par infiltration, via les drains agricoles et l'aquifère, ainsi que par ruissellement de surface et écoulement hypodermique lors d'évènements de précipitation. De plus, l'instabilité des berges combinée au relâchement de la couche superficielle occasionnée par les travaux de labour des sols favorisent également le phénomène d'érosion des sols à l'origine d'un apport important de sédiments au cours d'eau. Ces caractéristiques intrinsèques à chacun des tributaires du micro-bassin versant du Bras d'Henri vont considérablement influencer la qualité de l'eau de ces derniers.

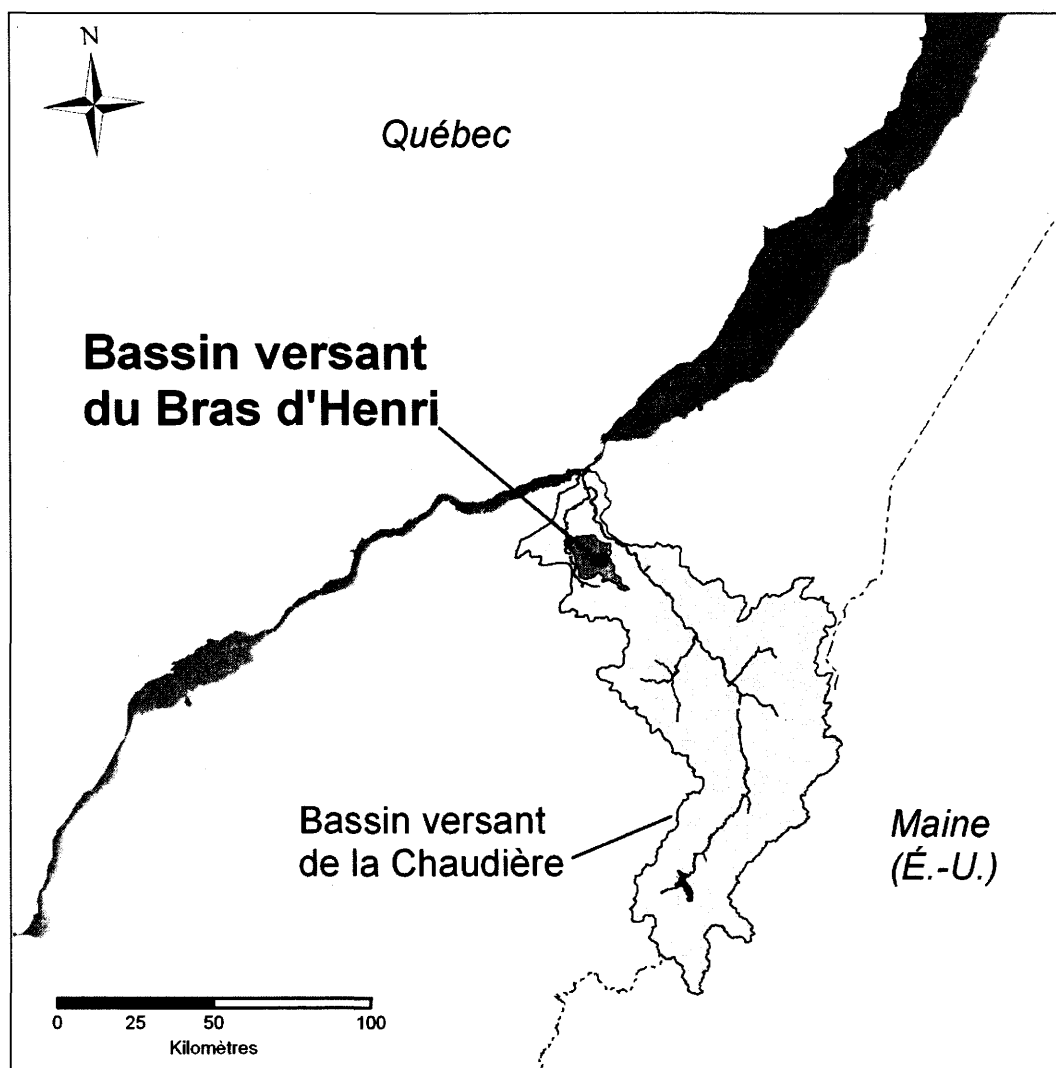


Figure 2 : Carte de la région d'étude démontrant l'emplacement du bassin versant du Bras d'Henri dans le bassin versant de la rivière Chaudière.

Cette thèse discute de la présence des fortes concentrations de nitrite observées dans les cours d'eau d'un bassin versant dominé par des pratiques agricoles et d'élevage porcine intensives, où les enjeux de contamination de l'eau par les éléments nutritifs sont considérables. En effet, il est primordial de se questionner sur le rôle de la contamination diffuse en milieu agricole en relation avec les niveaux élevés de nitrite dans l'eau de surface afin d'éventuellement développer des pratiques de gestion bénéfiques qui diminueront l'impact de l'agriculture sur la qualité de l'eau.

Les travaux ont d'abord visé à établir un protocole de conservation des échantillons pour le dosage du nitrite dans l'eau douce afin de pallier le manque d'information dans la littérature sur la stratégie à adopter. Les observations recueillies ont permis de remettre en question l'origine des faibles concentrations de nitrite rapportées dans la littérature, qui sont souvent considérées comme négligeables. La thèse a l'originalité de présenter un premier suivi de la qualité de l'eau au Québec et au Canada rapportant la présence de nitrite, ainsi que de caractériser la variabilité de ces concentrations de nitrite à l'intérieur du bassin-versant, en comparant trois cours d'eau pendant trois régimes hydrologiques contrastés. Les concentrations en nitrite sont également mises en relation avec d'autres paramètres physico-chimiques pouvant potentiellement indiquer l'origine des pointes de nitrite observées. La thèse innove également en établissant les tendances de rétention du NO_2^- afin de déterminer sa dynamique, lors de son transport de l'amont vers l'aval, dans deux cours d'eau durant l'étiage d'été et la recharge automnale. De plus, la contribution directe de l'impact des sédiments dans l'apport en nitrite au cours d'eau est évaluée à l'aide d'un dispositif spécialement adapté à cet effet. Le dispositif permet d'échantillonner l'eau de résurgence en provenance des sédiments vers la surface et de quantifier les différentes composantes physico-chimiques afin d'identifier leurs contributions relatives à l'eau de surface.

2. Objectifs et hypothèses

2.1 Conservation des échantillons de nitrite

Le premier objectif de la présente thèse de doctorat consiste à établir un protocole adéquat pour la conservation des échantillons d'eau douce en vue d'une détermination de la teneur en nitrite puisque les stratégies adoptées dans les diverses méthodes officielles couramment utilisées en laboratoire sont souvent non explicitées, ou se contredisent d'une méthode à l'autre. Notre hypothèse originelle est que la congélation d'un échantillon induit une diminution importante de la concentration initiale de nitrite contenue dans l'eau et que la durée de la période de congélation accentue ce phénomène. On émet également l'hypothèse que la filtration des échantillons à $0,45\ \mu\text{m}$ pour des fins d'analyse induit une diminution de la concentration initiale en nitrite. On vérifie également l'effet de la congélation des échantillons d'eau sur la concentration de nitrite. Finalement, on émet l'hypothèse que le meilleur protocole de conservation des échantillons est l'entreposage à 4°C pendant 24 heures et qu'au-delà de cette période, il y a un changement significatif de la concentration en nitrite.

2.2 Suivi des concentrations de nitrite

Le second objectif consiste à effectuer un suivi de la qualité de l'eau de surface dans trois cours d'eau d'un micro-bassin versant agricole pendant trois différents régimes hydrologiques et à étudier l'évolution des concentrations en nitrite. L'hypothèse initiale est que les concentrations observées en NO_2^- dans l'eau de surface dépassent régulièrement les critères de qualité de l'eau pour la protection de la vie aquatique émis par le gouvernement provincial et que ces concentrations de NO_2^- varient fortement à l'intérieur du micro-bassin versant ainsi qu'en fonction du régime hydrologique qui influence directement les processus de transport de l'azote dans les cours d'eau. Puisque la présence de fortes concentrations de NO_2^- dans l'eau de surface est liée aux conditions présentes dans le cours d'eau, on vérifie que les concentrations de nitrite

sont fortement influencées par la concentration en nitrate et en ammonium ainsi par le pH et l'OD. Finalement, on émet l'hypothèse que la qualité de l'eau de l'aquifère influence grandement la qualité de l'eau de surface.

2.3 Sources de nitrite

Le troisième objectif de cette étude consiste à étudier la dynamique du NO_2^- lors de son transport de l'amont vers l'aval dans les deux cours d'eau situés en milieu de culture, et de caractériser les teneurs en NO_2^- , NH_4^+ , NO_3^- et NT (azote total) pour les différentes composantes hydrologiques afin d'identifier les sources à l'origine des pointes de concentrations de NO_2^- observées dans le micro-bassin versant du Bras d'Henri. Selon notre hypothèse de départ, on s'attend à ce que la dynamique du NO_2^- diffère grandement d'un cours d'eau à l'autre puisqu'ils présentent des caractéristiques physiques différentes. On émet aussi l'hypothèse que les concentrations et les charges massiques du NO_2^- , NH_4^+ et NO_3^- et NT diffèrent selon l'origine de l'apport en eau aux tributaires. On vérifie que la contribution de l'eau de résurgence en NO_2^- est majeure et qu'elle constitue la principale source de NO_2^- responsable des fortes pointes observées dans les deux tributaires. On émet également l'hypothèse que les différences observées en NO_2^- , NH_4^+ et NO_3^- entre l'eau de résurgence et l'aquifère, ainsi qu'avec l'eau de surface proviennent majoritairement de la transformation de N se produisant dans les sédiments.

3. Matériel et méthodes

3.1 Sites et périodes d'étude

Trois petits cours d'eau contrastés ont été ciblés dans le micro-bassin versant du Bras d'Henri, les branches² 15, 14 et 55. Pour chaque branche de cours d'eau, une section d'approximativement 100 m a été délimitée par le positionnement de deux stations d'échantillonnage (Figure 3). La branche 15 est délimitée en amont par la station S1 et en aval par la station S2, et possède une superficie de drainage d'environ 68.1 ha. Similairement, la branche 14, qui est délimitée par les stations S3 et S4, draine une superficie approximative de 126.2 ha. Ces deux sections de cours d'eau sont adjacentes à des cultures de maïs, de fourrage et de soya. La branche 55 concerne la troisième section de cours d'eau, qui est délimitée similairement par les stations S5 et S6, et draine approximativement 12.4 ha. Ce cours d'eau est à la tête du micro-bassin versant dans une érablière située à l'intérieur de la superficie de drainage de la branche 14.

Trois régimes hydrologiques contrastés ont été ciblés pour l'échantillonnage afin d'évaluer leur influence respective sur la qualité de l'eau et les concentrations en nitrite. L'étiage d'été est défini par un faible débit et une diminution de la hauteur d'eau. Le taux d'infiltration de l'eau dans le sol varie selon l'état de sécheresse du sol, pouvant ainsi occasionner d'importants épisodes de ruissellement lors de précipitation. La recharge automnale est un régime hydrologique caractérisé par une augmentation du taux de précipitation, favorisant les processus d'infiltration et de ruissellement ainsi qu'une augmentation des débits et de la hauteur d'eau. Finalement, la fonte printanière est définie par une crue majeure provenant de la fonte du couvert nival avec des précipitations occasionnelles. L'infiltration est plus ou moins limitée par le gel du sol, provoquant une augmentation du ruissellement et de l'érosion des sols. Chacun des trois régimes a fait l'objet de deux échantillonnages successifs au cours des cycles annuels 2005-2006 et 2006-2007.

² La numérotation des branches de cours d'eau provient de la carte cadastrale de la Paroisse de Saint-Narcisse.

3.2 Protocoles d'échantillonnage et d'analyses

3.2.1 Eau

La stratégie d'échantillonnage de l'eau adoptée préconise une collecte d'échantillons tous les deux jours sur l'étendue du régime hydrologique visé afin de s'assurer d'une représentativité de la période et d'une bonne qualité des analyses physico-chimiques. Le tableau 1 résume la stratégie d'échantillonnage de l'eau pour la durée de l'étude. Quatre composantes hydrologiques ont été identifiées et échantillonnées : eau de surface, eau des drains agricoles, eau de résurgence et eau de l'aquifère. La figure 3 démontre l'emplacement des différents points d'échantillonnage à l'intérieur du micro-bassin versant du Bras d'Henri. Le nombre d'échantillons varie d'un cours d'eau à l'autre en fonction de ces composantes. L'eau de surface a été collectée en amont et en aval de chaque section de cours d'eau. Un échantillon d'eau a également été prélevé à chaque sortie de drain agricole située à l'intérieur de la section de cours d'eau désignée. L'eau de résurgence a été échantillonnée à l'aide du positionnement de 2 à 4 dispositifs insérés dans les sédiments (voir section 3.3). L'eau de l'aquifère a été échantillonnée dans les piézomètres P03 et P09, qui sont respectivement positionnés près des branches 15 et 14. La collecte des échantillons est effectuée à l'aide d'une bouteille de 1L en polyéthylène haute densité (HDPE). Tous les échantillons sont entreposés dans des glacières à 4 °C et transportés à l'obscurité au laboratoire. Au laboratoire, chaque échantillon est immédiatement dosé et/ou conservé à 4°C au réfrigérateur jusqu'à un maximum de 48h pour dosage des divers paramètres physico-chimiques.

Les protocoles d'analyses pour les différents paramètres physico-chimiques des échantillons d'eau sont présentés en détail dans Corriveau *et al.* (2009). L'oxygène dissous et la température ont été mesurés *in situ* tandis que le pH et la conductivité électrique (CE) ont été mesurés en laboratoire. Les concentrations de nitrite et d'ammonium dans l'eau ont été déterminées par colorimétrie manuelle, utilisant les méthodes modifiées de Keeney et Nelson (1982) et Nkonge et Ballance (1982) pour chaque ion respectivement. Les recommandations de Corriveau *et al.* (2008) concernant la procédure de conservation des échantillons d'eau pour l'analyse de la teneur en nitrite ont été suivies. L'analyse des anions de nitrate, chlorure et sulfate a été effectuée par chromatographie ionique (Dionex DX-500 Ion Chromatography Workstation, Dionex,

Sunnyvale, CA). Les teneurs en azote total (NT) et l'azote total dissous (NTD) ont été déterminées par colorimétrie automatisée (Eaton *et al.* 1995). La détermination du phosphore total (PT) a été faite par colorimétrie manuelle (AOAC 1995).

Tableau 1 : Inventaire des échantillons de l'étiage d'été 2005 à la fonte printanière 2007, et le nombre de collectes d'échantillon (n) pour chaque branche, type et régime hydrologique.

Régime hydrologique	n	Type d'échantillon	Station échantillonnage*			Nombre d'échantillons†‡			Sous-total†	Total par régime ‡
			Br.15	Br.14	Br.55	Br.15	Br.14	Br.55		
Etiage d'été 2005										
(2 au 22 août)	10	Surface	2	2	2	20	20	20	60	180
		Drain agricole	1	5	n.d.	10	50	n.d.	60	
		Résurgence	2	2	n.d.	20	20	n.d.	40	
		Aquifère	1	1	n.d.	10	10	n.d.	20	
Recharge automnale 2005										
(23 oct. au 2 nov.)	6	Surface	2	2	2	12	12	12	36	132
		Drain agricole	1	5	n.d.	6	30	n.d.	36	
		Résurgence	4	4	n.d.	24	24	n.d.	48	
		Aquifère	1	1	n.d.	6	6	n.d.	12	
Fonte printanière 2006										
(5 au 18 avril)	6	Surface	2	2	2	12	12	12	36	84
		Drain agricole	1	5	n.d.	6	30	n.d.	36	
		Résurgence	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
		Aquifère	1	1	n.d.	6	6	n.d.	12	
Etiage d'été 2006										
(8 au 22 août)	8	Surface	2	2	2	16	16	16	48	176
		Drain agricole	1	5	n.d.	8	40	n.d.	48	
		Résurgence	4	4	n.d.	32	32	n.d.	64	
		Aquifère	1	1	n.d.	8	8	n.d.	16	
Recharge automnale 2006										
(3 au 11 nov.)	5	Surface	2	2	2	10	10	10	30	110
		Drain agricole	1	5	n.d.	5	25	n.d.	30	
		Résurgence	4	4	n.d.	20	20	n.d.	40	
		Aquifère	1	1	n.d.	5	5	n.d.	10	
Fonte printanière 2007										
(24 avril au 1 ^{er} mai)	4	Surface	2	2	2	8	8	8	24	56
		Drain agricole	1	5	n.d.	4	20	n.d.	24	
		Résurgence	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
		Aquifère	1	1	n.d.	4	4	n.d.	8	

n.d. = Ne s'applique pas

* Nombre de stations d'échantillonnage par branche et par type pour chaque collecte

‡ Nombre maximal d'échantillons par branche et par type pour chaque régime

† Sous-total par type d'échantillonnage et par régime hydrologique

‡ Total par régime hydrologique

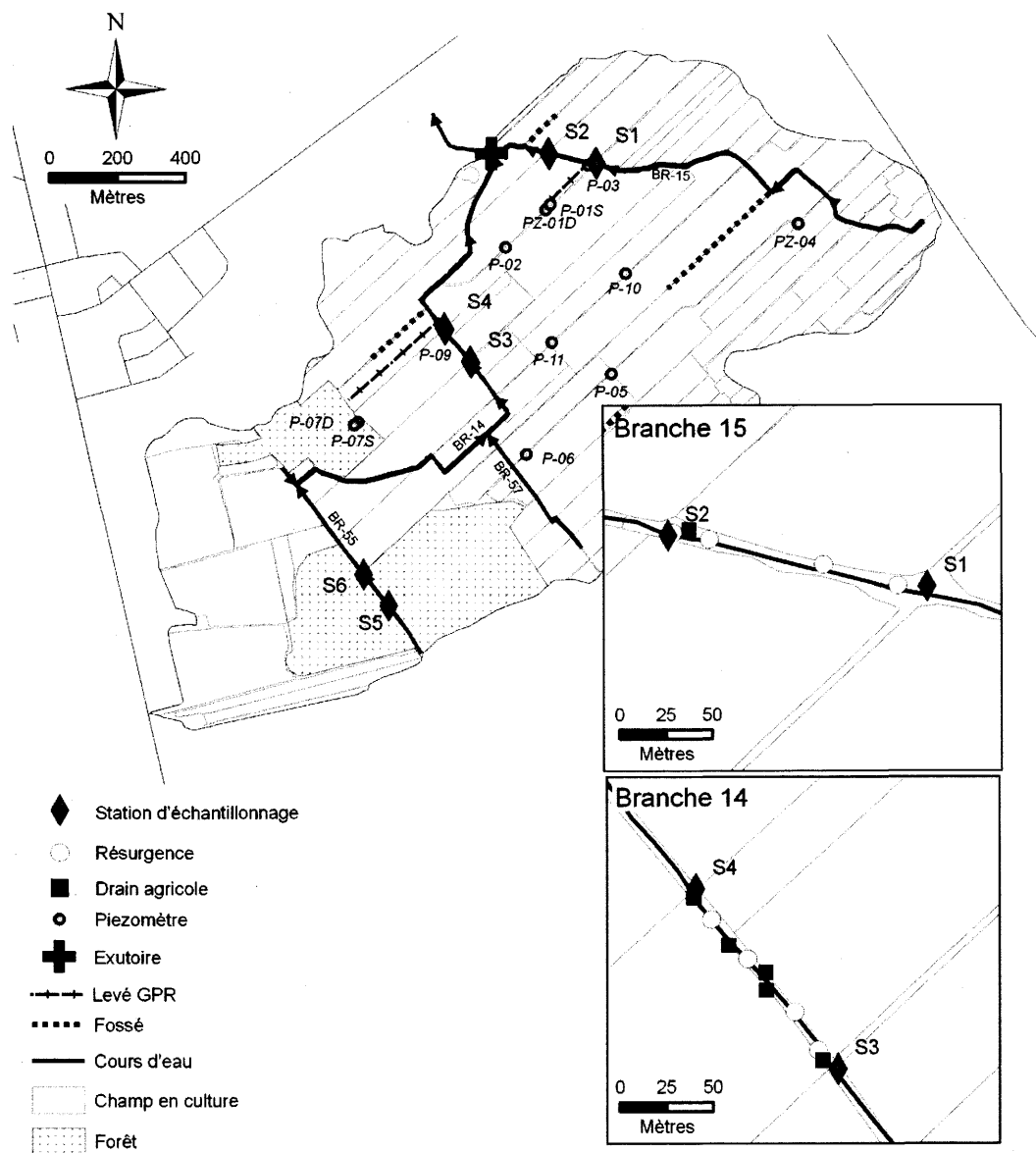


Figure 3 : Carte montrant la localisation des différents points d'échantillonnage pour l'eau de surface, eau des drains agricoles, eau de résurgence et eau de l'aquifère au sein des trois cours d'eau localisés à l'intérieur du micro-bassin versant du Bras d'Henri.

L'étude utilise également les données du suivi de qualité de l'eau de surface de 2005 et 2006 ainsi que celles du suivi de la qualité de l'eau souterraine de 2006 et 2007 collectées dans le micro-bassin versant du Bras d'Henri dans le cadre des projets WEBs et GAPS d'Agriculture et Agroalimentaire Canada et Ressources Naturelles Canada. Les protocoles d'échantillonnage et d'analyses sont détaillés dans Corriveau *et al.* (2009).

3.2.2 Sédiments

Les teneurs en azote total et en carbone total ont été déterminées dans 12 carottes de sédiment prélevées dans le lit des branches 15 et 14 par combustion sèche (Truspec CN 2000, LECO Corporation, St-Joseph, MI). Les protocoles d'échantillonnage et d'analyses des sédiments sont détaillés dans Corriveau *et al.* (Accepté 2009). Cette caractérisation est effectuée dans le but d'évaluer l'impact de la teneur en carbone total (C) et azote total (N) dans les sédiments sur les concentrations de NO_2^- présentes dans l'eau de résurgence.

3.2.3 Gaz dissous

La méthode d'analyse des concentrations de N_2O dissous dans les échantillons d'eau de résurgence est basée sur les travaux de Kampbell *et al.* (1989). Le N_2O est prélevé dans le volume libre développé au-dessus de l'échantillon liquide placé dans une fiole préalablement mise sous vide. Cette technique de dégazage a été adaptée par Corriveau (2005) afin de déterminer les concentrations de N_2O dans l'eau d'un sol agricole pendant l'hiver, et récemment améliorée par Corriveau *et al.* (Accepté 2009). La méthode d'analyse par chromatographie en phase gazeuse pour les échantillons contenant du N_2O est décrite par van Bochove *et al.* (2001).

3.3 Échantillonnage de l'eau de résurgence

L'eau faisant résurgence au fond des ruisseaux a été échantillonnée afin de déterminer la contribution à partir de la recharge (Figure 4). Le dispositif d'échantillonnage consiste en un contenant cylindrique en acier inoxydable (diamètre = 0.25 m; hauteur = 0.18 m) ouvert à l'extrémité inférieure et verticalement inséré dans les sédiments du cours d'eau. Un sac aplati de 2 L est connecté via un tube de plastique à l'ouverture supérieure du dispositif afin de prélever l'échantillon d'eau. Il est important que le dispositif soit installé une à deux semaines avant le début de la période d'échantillonnage afin de permettre l'établissement d'un équilibre suite à son insertion dans les sédiments. Deux jours avant l'échantillonnage, un sac est installé sur le dispositif afin de collecter l'eau de résurgence. La bouteille est enlevée puis remplacée par une autre après 48 heures, conservée à 4°C dans une glacière et transportée au laboratoire. En

laboratoire, le volume d'eau récolté est noté. Un premier sous-échantillon homogène est prélevé de la bouteille à l'aide d'une double aiguille insérée dans une fiole ambrée équipée d'un septum afin de déterminer la concentration de N_2O dissous. L'opération est répétée une deuxième fois. Par la suite, un sous-échantillon homogène de 250 ml est également prélevé afin de procéder aux analyses des différentes formes de N (NO_2^- , NH_4^+ , NO_3^- et NT).

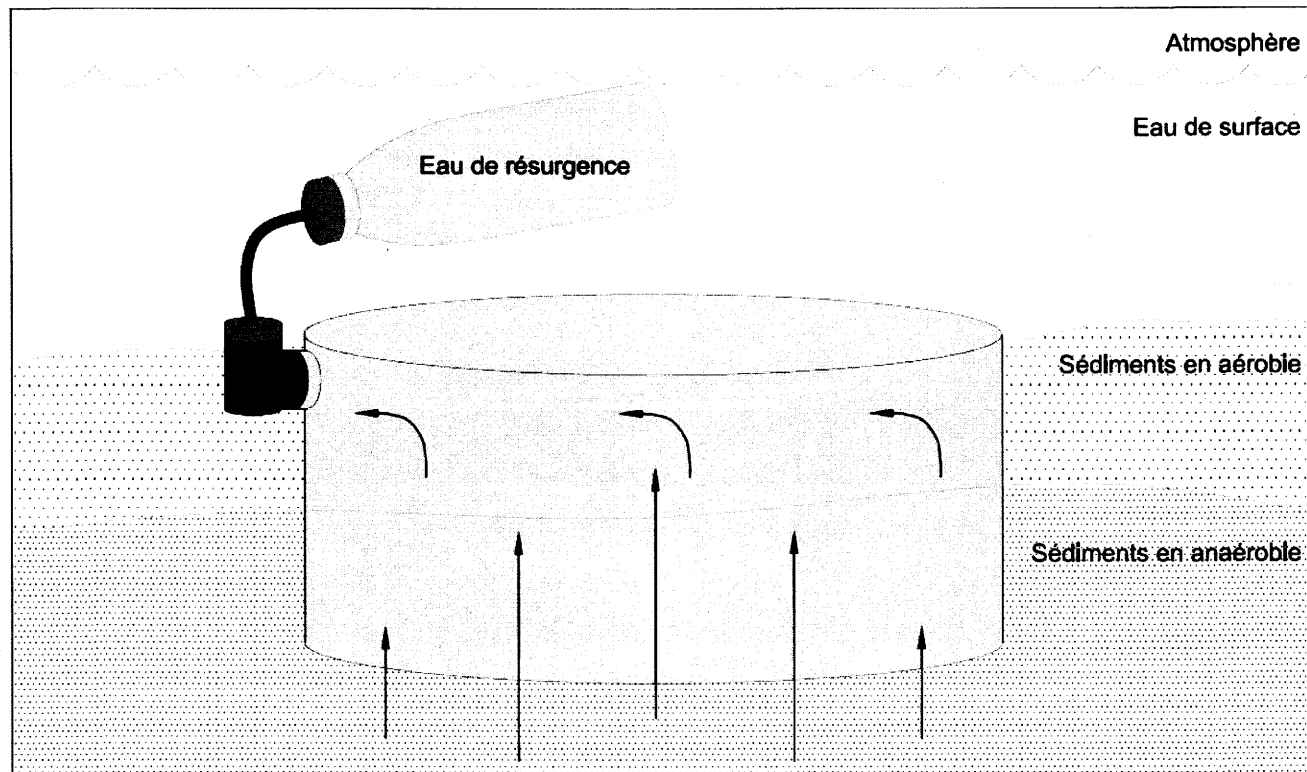


Figure 4 : Schéma du dispositif utilisé pour échantillonner l'eau de résurgence dans les sédiments du cours d'eau.

3.4 Mesures de débit

3.4.1 Exutoire

Le débit à l'exutoire du micro-bassin versant a été estimé hebdomadairement d'avril à décembre à chaque année, d'après l'établissement d'une courbe de tarage qui met en relation la hauteur d'eau et le débit (van Bochove *et al.*, 2005). Ainsi, la charge massique des différentes formes de

N a été calculée pour les stations S1 à S4 à partir d'un estimé du débit à chaque station obtenu à l'aide de la méthode des débits en fonction des superficies drainées. L'erreur combinée dans le calcul du débit des stations est estimée à être inférieure à 5%, en utilisant la méthode du développement de Taylor.

3.4.2 Drains agricoles

Le débit des drains agricoles n'a pas été mesuré pendant l'étiage d'été et la recharge automnale 2006. Toutefois, la moyenne du débit mesuré à chaque drain agricole par période hydrologique en 2005 a été utilisée pour estimer le débit du drain correspondant à chaque régime hydrologique correspondant en 2006. Une comparaison des précipitations effectives moyennes hebdomadaires, calculées selon la relation de Kopecky (2004), n'a montré aucune différence significative ni entre les étiages d'été 2005 et 2006, ni pour les recharges automnales 2005 et 2006 (données non montrées).

3.4.3 Résurgence

Des analyses préliminaires sur les données indiquent que le dispositif utilisé pour échantillonner l'eau de résurgence et mesurer la contribution de cette dernière au débit du cours d'eau a probablement induit une sous-estimation des charges pour les différentes formes de N. Plusieurs types d'erreur sont susceptibles de générer de l'inexactitude sur les mesures du débit de résurgence. Dans un premier temps, il est important de mentionner que la superficie couverte par les dispositifs d'échantillonnage représente moins de 1% de la superficie de chacune des sections de cours d'eau, ce qui permet de douter de la représentativité des conditions réelles dans les sédiments. De plus, de nombreuses études ont démontré que les ruisseaux et les rivières présentent une importante hétérogénéité hydrogéologique et texturale des sédiments qui est susceptible d'induire un débit préférentiel dans certaines zones, et ainsi réduire la répétitivité des mesures (Schafran et Driscoll, 1993 ; Woessner, 2000 ; Fleckenstein *et al.*, 2006). L'erreur générée par l'utilisation d'une extrapolation linéaire pour transposer les conditions des sédiments incorporés à l'intérieur du dispositif à l'échelle de la section du cours d'eau est supérieure à 100% pour chaque branche. Dans un second temps, de nombreuses études font également état de l'impact des manipulations sur les mesures du débit de l'eau de résurgence. Parmi les facteurs

étudiés, la taille, le matériau de fabrication du dispositif et le sac de plastique permettant la collection de l'échantillon d'eau sont susceptibles de limiter l'exactitude et la précision des mesures (Libelo et MacIntyre, 1994 ; Shaw et Prepas, 1989). L'emplacement du site d'échantillonnage ainsi que la mise en place du dispositif sont aussi susceptibles de modifier le gradient hydraulique naturellement présent dans les sédiments, et ainsi de biaiser le débit de l'eau de résurgence mesuré (Lee 1977). Afin d'obtenir un estimé plus précis du débit de résurgence, une approche simplifiée de bilan hydrologique fermé (Eq. 1, Chapitre 10) a été utilisée, en assumant que le ruissellement et la précipitation étaient négligeables sur les deux sections de cours d'eau puisqu'il n'y a eu aucune précipitation importante pendant les deux périodes d'échantillonnage en 2006.

4. Résultats et discussion

4.1 Importance d'une technique de conservation adéquate

Les expériences réalisées sur les différents aspects de la conservation des échantillons d'eau douce ont démontré qu'un mauvais protocole de conservation est susceptible d'induire des résultats erronés lors de la détermination de la teneur en nitrite. En effet, l'erreur induite sur la détermination de la concentration en nitrite peut varier considérablement lorsque les échantillons d'eau ne sont pas manipulés et conservés de façon adéquate. Les concentrations en nitrite ont présenté des différences non significatives lors de la filtration des échantillons effectuée par deux techniciens différents (Fig. 1 et Tableau 1, Chapitre 8). Toutefois, il est recommandé que la filtration des échantillons d'eau dans le but de déterminer la concentration en nitrite soit effectuée avec des filtres prélavés à l'eau bi-distillée et seulement lorsqu'une turbidité des échantillons est visible à l'œil afin de minimiser toutes sources de contamination. Les analyses de faibles concentrations de nitrite sont susceptibles de générer un pourcentage d'erreurs plus élevé. Dans un second temps, il a également été démontré que la conservation par congélation des échantillons d'eau pour une détermination *a posteriori* de la teneur en nitrite induit une diminution significative ainsi qu'une importante variabilité des résultats. De plus, les échantillons caractérisés par une forte teneur en nitrite sont sujets à une plus importante diminution de concentration après la congélation que les échantillons à plus faible concentration (Fig. 2, Chapitre 8). Des études effectuées sur d'autres types d'échantillons ont également révélé que la congélation altère la concentration en nitrite et ce, de façon plus importante lorsque le pH de l'échantillon est inférieur à 8 (Takenaka *et al.*, 1992, Goyal et Hafez, 1995; Clough *et al.*, 2001). La congélation induit une augmentation graduelle de la force ionique, menant à une diminution du pH (Goyal et Hafez, 1995). Bien que la conservation par acidification des échantillons d'eau pour l'analyse en nitrite soit proscrite, la congélation induit un effet analogue sur le pH de la solution en provoquant une augmentation du taux d'oxydation du nitrite en nitrate et donc, une diminution du nitrite en solution. La durée de la période de congélation semble influencer la diminution de la teneur en nitrite (Tableau 2, Chapitre 8). Toutefois, l'erreur étant non

systematique, cette technique est inadéquate pour la conservation des échantillons compte tenu de l'impossibilité d'appliquer un facteur de correction aux valeurs obtenues après congélation de l'échantillon d'eau. En conséquence, l'entreposage à 4°C des échantillons d'eau douce peut être considéré comme la seule technique de conservation valable. Il peut y avoir une légère diminution de la teneur en nitrite des échantillons avec le temps (Figure 3, Chapitre 8), mais une durée d'entreposage inférieur à sept jours n'induit qu'une variabilité non significative sur les concentrations (Tableau 3, Chapitre 8). Contrairement aux résultats de Proctor (1962) qui rapporte que la concentration en nitrite des échantillons d'eau marine non congelés présente une plus forte variabilité que ceux congelés, les résultats de la présente étude avec des échantillons d'eau douce démontrent clairement l'impact négatif de la congélation. Ainsi, l'entreposage à 4°C pour une période de 48 heures s'avère être la technique la plus adéquate pour la conservation des échantillons d'eau douce, puisque la faible variabilité des teneurs en nitrite induite par cette technique est négligeable comparativement à celle induite par la congélation.

4.2 Caractérisation des pointes de nitrite

Le suivi de la qualité de l'eau effectué en 2005 et 2006 à l'exutoire du micro-bassin versant du Bras d'Henri ainsi que dans trois tributaires contrastés situés à l'intérieur de ce dernier a permis de constater que les concentrations en NO_2^- atteignent régulièrement des niveaux critiques. L'eau de surface à l'exutoire du micro-bassin versant est caractérisée par des concentrations mensuelles moyennes en nitrite élevées de mai à septembre, avec un maximum atteint en juin (Tableau 2, Chapitre 9). Durant ces mois, les concentrations en nitrite dépassent régulièrement le critère de protection de la vie aquatique pour une exposition aiguë ($0,06 \text{ mg N L}^{-1}$) tandis que les mois de juin et juillet atteignent le seuil critique d'une exposition chronique ($0,02 \text{ mg N L}^{-1}$) (Ministère de l'environnement et de la faune, 1998). Les teneurs en nitrite mesurées en 2005 et 2006 dans l'eau de surface à l'exutoire sont corrélées positivement avec le NO_3^- et négativement avec le débit (Chapitre 9). De plus, le suivi de la qualité de l'eau effectué dans les trois cours d'eau pendant l'étiage d'été, la recharge automnale et la fonte printanière a révélé une grande variabilité des concentrations en NO_2^- à l'intérieur du micro-bassin versant, en fonction de la branche ainsi que du régime hydrologique. Les branches 15 et 14, situées dans une zone cultivée, sont caractérisées par des concentrations moyennes en nitrite élevées pendant l'étiage d'été, dépassant

régulièrement le critère de protection de la vie aquatique pour une exposition chronique (Tableau 3, Chapitre 9). De plus, la branche 15 est le seul cours d'eau dont les teneurs en NO_2^- sont élevées à un niveau critique durant les trois régimes hydrologiques, dépassant régulièrement le critère de protection de la vie aquatique pour une exposition aiguë pendant l'été (Tableau 3, Chapitre 9). Pendant toutes les périodes du suivi, la branche 55, qui est située dans la portion forestière à la tête du micro-bassin versant, présente de faibles concentrations en NO_2^- , près de la limite de détection (Tableau 3, Chapitre 9). Les résultats démontrent clairement que les concentrations en nitrite observées à l'exutoire ne représentent pas la variabilité des concentrations observées à l'intérieur du micro-bassin versant. Des études effectuées en Europe dans différentes rivières ont également révélé la présence de fortes concentrations en NO_2^- pendant l'été ainsi que de plus faibles en hiver (Regierungspräsidium Gießen, 1994; Smith *et al.*, 1995; van Bochove *et al.*, 1996; von der Wiesche et Wetzel, 1998).

L'analyse de différents paramètres (NO_3^- , NH_4^+ , NT et SO_4^{2-}) de la qualité de l'eau pendant le suivi du NO_2^- dans les cours d'eau a permis d'établir de nettes distinctions entre les branches 15, 14 et 55 (Tableau 4, Chapitre 9). Les résultats démontrent clairement que la branche 55 en milieu forestier se distingue des deux autres par une plus faible teneur en azote total dont une proportion plus importante est en NH_4^+ . Les faibles apports en N au sol forestier, comparativement aux sols agricoles fertilisés, influencent l'immobilisation du N minéralisé à court terme. En effet, un sol possédant une faible teneur en N favorise les processus de minéralisation et d'immobilisation, alors que la fertilisation des sols favorise une minéralisation mais aussi une augmentation du risque de perte en NO_3^- (van Bochove *et al.*, 1996). Les deux cours d'eau situés en zone cultivée montrent également des contrastes importants l'un par rapport à l'autre. La branche 15 présente des concentrations élevées en NO_3^- et SO_4^{2-} ainsi que de faibles concentrations en NH_4^+ . À l'inverse, la branche 14 présente des concentrations significativement plus faibles en NO_3^- et SO_4^{2-} ainsi que des concentrations significativement plus élevées en NH_4^+ (Tableau 4, Chapitre 9). De plus, ces deux cours d'eau présentent également des relations opposées entre NO_2^- et NH_4^+ ainsi qu'entre NO_2^- et NO_3^- (Tableau 5, Chapitre 9). La corrélation est directe avec le NO_3^- et inverse avec le NH_4^+ dans la branche 15, alors qu'elle est inverse avec le NO_3^- et directe avec le NH_4^+ dans la branche 14. Ces différences observées entre les deux branches

peuvent indiquer des sources différentes en nitrite ainsi qu'une dynamique différente entre le nitrite et les autres formes de N.

Le suivi de la qualité de l'eau souterraine, effectué en 2006 et 2007 à l'aide de douze piézomètres, a révélé que les deux cours d'eau sont principalement alimentés par une eau souterraine différente, pouvant potentiellement influencer la qualité de l'eau de surface. En effet, la combinaison de données de qualité de l'eau souterraine, de sondages géologiques et de levés de radar pénétrant GPR (Figure 2, Chapitre 9) indiquent que le système d'aquifère du micro-bassin versant est séparé en un aquifère superficiel et un aquifère régional. L'aquifère superficiel est libre et se compose de sédiments littoraux d'épaisseur et de perméabilité variables, tandis que l'aquifère régional est un aquifère de substratum rocheux. Généralement, l'aquifère superficiel et l'aquifère régional sont séparés par une couche imperméable de diamictons. Cette couche limite le mélange des eaux souterraines provenant des deux systèmes. Ainsi, un premier groupe de piézomètres localisé près de la branche 15 est caractérisé par une eau souterraine avec des concentrations très fortes en NO_3^- , faibles en NH_4^+ , fortes en SO_4^{2-} et de forts OD, similaires à ceux observés dans l'eau de surface (Tableaux 6 et 7, Chapitre 9). Dans le second groupe, dont les piézomètres sont localisés dans les environs de la branche 14, l'eau souterraine récoltée est caractérisée par des concentrations très faibles en NO_3^- , relativement fortes en NH_4^+ , faibles en SO_4^{2-} et des OD près de l'anoxie (Tableaux 6 et 7, Chapitre 9). La qualité de l'eau souterraine est susceptible d'influencer les différents processus microbiologiques à l'interface eau-sédiment des différentes branches et ainsi, affecter les concentrations et/ou accumulations de NO_2^- dans l'eau de surface. En effet, Smith *et al.* (1995) ont rapporté que la transformation de N à l'interface eau-sédiment contribue pour 60% à la charge en nitrite retrouvée dans le bassin versant Lough Neagh (Irlande du Nord). De plus, les caractéristiques physico-chimiques de ces deux groupes de piézomètres sont respectivement associées aux conditions prévalant dans l'aquifère de surface et l'aquifère régionale. Ainsi, la présence d'une couche imperméable de diamictons est susceptible d'influencer les rapports de dilution entre les aquifères et aussi, la qualité de l'eau de surface. En conséquence, les conditions d'hétérogénéité hydrogéologique dans différentes portions du micro-bassin versant du Bras d'Henri ont un impact majeur sur la physico-chimie de l'eau de surface, pouvant expliquer la variabilité des concentrations en nitrite.

4.3 Sources de nitrite dans les cours d'eau

Les petits cours d'eau situés en tête de bassin versant jouent un rôle important dans la rétention de l'azote pour les écosystèmes situés en aval (Peterson *et al.*, 2001 ; Birgand *et al.*, 2007). Dans le micro-bassin versant du Bras d'Henri, les deux sections de cours d'eau ont démontré des exportations en nitrite, ammonium, nitrate et azote total pendant l'étiage d'été et la recharge automnale 2006 (Figure 5, Chapitre 10). Ces résultats concordent avec les travaux de Peterson *et al.* (2001) et Mulholland *et al.* (2008) qui ont observé une diminution de l'efficacité de la rétention de N avec l'augmentation de la charge en N dans les cours d'eau, générant ainsi des exportations. À notre connaissance, il y a un manque flagrant d'information sur la rétention du nitrite dans les écosystèmes aquatiques. En effet, les teneurs en nitrite observées dans les cours d'eau lors des suivis sont plus souvent qu'autrement considérées négligeables et incluses dans l'analyse du nitrate. Notre étude est la première à évaluer la dynamique du nitrite dans des cours d'eau en milieu agricole pendant l'étiage d'été et la recharge automnale. Le nitrite est faiblement retenu dans la branche 15, tandis qu'il est faiblement exporté dans la branche 14 (Figure 5, Chapitre 10). Bien que ces différences entre les deux branches soient non significatives, elles démontrent une tendance selon laquelle la rétention du nitrite est favorisée au sein de la branche 15, comparativement à la branche 14. Le manque d'information sur les différents processus de rétention du NO_2^- dans les écosystèmes aquatiques ne facilite pas le suivi de cet ion dans les différents cours d'eau. Toutefois, de nombreuses études ont rapporté l'importance de la rétention du NH_4^+ , NO_3^- et NT pour les différents types d'écosystèmes aquatiques (Birgand *et al.*, 2007). Similairement à la rétention du NO_2^- , l'ammonium est retenu au sein de la branche 15 tandis qu'il est exporté de la section de la branche 14. On observe une différence significative entre les charges retenues et exportées entre les deux branches pendant la recharge automnale. Il est également important de mentionner que les deux cours d'eau sont caractérisés par d'importantes exportations en NO_3^- et NT pendant les deux régimes hydrologiques (Figure 5, Chapitre 10). Les exportations de NO_3^- sont plus importantes pendant l'étiage d'été. Des études ont rapporté que l'efficacité de rétention du nitrate dans un cours d'eau donné est inférieure à celle de l'ammonium (Martí et Sabater, 1996 ; Peterson *et al.*, 2001). De plus, le nitrate est la principale forme d'azote provenant des fertilisants agricoles et il est la forme d'azote la plus mobile et stable dans l'environnement. En effet, les charges en nitrate observées dans l'eau de surface sont supérieures

à celles de nitrite et d'ammonium dans les deux cours d'eau du micro-bassin versant du Bras d'Henri (Tableau 2, Chapitre 10), un résultat couramment observé en milieu agricole. La rétention de l'ammonium dans les cours d'eau s'effectue par le biais de l'assimilation par les plantes aquatiques, la nitrification, la sorption et la sédimentation, tandis que le nitrate est principalement retenu par les plantes aquatiques et la dénitrification (Ehrlich et Slack, 1969, Triska *et al.*, 1989, Peterson *et al.*, 2001, Mulholland *et al.*, 2008). À la lumière de ces résultats, il est important de caractériser les sources de N au sein des deux cours d'eau afin de comprendre la dynamique de rétention pour les différentes formes de N.

La caractérisation de l'eau de résurgence pendant les deux régimes hydrologiques a permis de constater que les concentrations en NO_2^- et NH_4^+ sont du même ordre de grandeur d'un cours d'eau à l'autre, tandis que celles des drains agricoles sont plus importantes dans la branche 14 (Tableau 3, Chapitre 10). Toutefois, la comparaison des charges en nitrite provenant des deux sources indique une contribution plus importante provenant de l'eau de résurgence. En effet, la contribution relative de l'eau de résurgence sur les apports en nitrite aux cours d'eau varie de 1 à 4%, tandis que celle des drains agricoles varie entre 0 à 2% (Tableau 3, Chapitre 10). Ces valeurs sont inférieures à celle de Smith *et al.* (1995), qui ont estimé à 60% la contribution en NO_2^- provenant de la transformation de N à l'interface eau-sédiment. Von der Wiesche et Wetzel (1998) ont observé des concentrations en NO_2^- dans l'eau interstitielle des sédiments inférieures de 20% à celles de l'eau de surface, des valeurs se rapprochant de celles observées dans le micro-bassin versant. La formation et l'accumulation du nitrite dans les sédiments et/ou la colonne d'eau se produit par l'intermédiaire de trois processus, qui sont la nitrification, la dénitrification et la DNRA. Ces processus sont principalement influencés par la composition de la population bactérienne, le OD, la disponibilité en C et N du substrat et les conditions environnementales ambiantes (Kelso *et al.*, 1999 ; Stief *et al.*, 2002). Les concentrations et les charges en nitrate provenant de l'eau de résurgence sont très faibles dans les deux cours d'eau, tandis que l'eau des drains agricoles présente d'importantes concentrations et charges en nitrate, avec des valeurs plus élevées dans la branche 14 (Tableau 3, Chapitre 10). Ces résultats témoignent d'une activité réductrice importante dans les sédiments provenant de la dénitrification et/ou de la DNRA et menant à la consommation des NO_3^- dans l'eau de résurgence des deux branches. En effet, la forte demande en oxygène provenant de la décomposition de la matière organique et de la

diffusion limitée de l'oxygène de la colonne d'eau favorise la formation de zones anaérobies dans les sédiments (Birgand *et al.*, 2007). De plus, les fortes concentrations et charges d'ammonium présentes dans l'eau de résurgence combinées à celles du NO_2^- indiquent que la DNRA a possiblement été un processus important dans la réduction du nitrate (Tableau 3, Chapitre 10). Bien que l'importance de la dénitrification dans le budget des flux de N dans les bassins versants agricoles soit bien établie dans la littérature, certaines études ont rapporté la DNRA comme processus important dans la réduction du nitrate dans les cours d'eau (Birgand *et al.*, 2007).

Les caractéristiques des sédiments suggèrent que les teneurs en nitrite de l'eau de résurgence proviennent de l'action combinée de la dénitrification et de la DNRA, avec de ratio C/N de 11.5 et 12.0 pour les branches 15 et 14 respectivement. En effet, Kelso *et al.* (1999) ont démontré que le carbone stocké dans les sédiments d'un cours d'eau est suffisant pour soutenir la dénitrification ainsi que la DNRA. Smith (1982) a déterminé que le principal produit final de la DNRA est le NO_2^- lorsque le ratio C/N est inférieur à 17,36. De plus, les concentrations de N_2O trouvées dans l'eau de résurgence suggèrent à titre indicatif qu'une dénitrification incomplète est favorisée par les fortes teneurs en NO_3^- de l'eau souterraine alimentant la branche 15 ($1218 \text{ ng N}_2\text{O L}^{-1}$) tandis qu'une dénitrification complète est favorisée par les faibles teneurs en NO_3^- dans l'eau souterraine alimentant le branche 14 ($542 \text{ ng N}_2\text{O L}^{-1}$). Toutefois, il est important de mentionner que le dispositif d'échantillonnage de l'eau de résurgence est susceptible d'avoir induit un biais expérimental, en limitant la nitrification subséquente du NH_4^+ de l'eau de résurgence. De plus, les fortes concentrations de NH_4^+ dans l'eau de résurgence des deux cours d'eau sont susceptibles de provenir en partie de la minéralisation. En effet, la minéralisation de la matière organique dans les sédiments peut induire des concentrations élevées d'ammonium dans l'eau interstitielle, supérieures à celles de la colonne d'eau (Ponnamperuma, 1972). En dehors de ces hypothèses sur les processus microbiologiques responsables de la formation et l'accumulation de nitrite dans l'eau de résurgence, cette étude suggère que les différences de qualité de l'eau souterraine influencent la qualité de l'eau de résurgence, ce qui explique partiellement les différences de concentrations de NO_2^- et NH_4^+ entre les branches 15 et 14. Notre protocole expérimental a permis de caractériser l'eau de résurgence et celles des drains agricoles, deux importantes sources de N dans le Bras d'Henri. Toutefois, il est important de mentionner que la somme des contributions provenant de l'eau de résurgence et des drains agricoles pendant les deux régimes

hydrologiques explique moins de 15% des apports en en NT et moins de 25% de ceux en NO_3^- , indiquant qu'une ou plusieurs sources de N n'ont pas été considérées (Tableau 3, Chapitre 10). Dans de prochains travaux, il serait pertinent d'évaluer l'impact des flux latéraux induits par les hautes berges près du cours d'eau, de l'extension latérale de la zone hyporhéique, des événements de ruissellement et de l'activité biogéochimiques au sein de la colonne d'eau afin d'identifier et caractériser d'autres sources de N susceptibles d'influencer la dynamique de l'azote.

Le suivi des différentes formes de N, incluant le nitrite, dans un cours d'eau demeure un exercice ardu, puisque ces formes sont soumises à l'influence de plusieurs facteurs tels que la concentration en nutriments, l'activité abiotique et biologique, les caractéristiques du cours d'eau ainsi que le transport advectif le long du système hydrographique. Notre étude a permis de mettre en évidence le besoin de réduire les pertes de N provenant des terres agricoles, qui sont en grande partie responsable de la contamination en N de l'aquifère superficiel. Pour ce faire, il faudrait diminuer les excès de nutriments appliqués dans le micro-bassin versant du Bras d'Henri, afin de minimiser la présence de fortes concentrations de nitrite dans l'eau de surface des petits cours d'eau. Bien que l'application de pratiques de gestion bénéfique soit susceptible de restreindre les pertes d'azote à l'échelle de la parcelle, d'autres facteurs et/ou processus peuvent favoriser les apports de N dans les cours d'eau. La morphologie du lit de la rivière, les zones préférentielles de résurgence provenant de l'hétérogénéité de l'hydrogéologie ainsi que des sédiments, et de la physico-chimie l'aquifère induisent des zones de production variable en de nitrite.

5. Conclusions

L'étude des concentrations de nitrite dans les cours d'eau d'un bassin versant agricole avait comme but ultime d'évaluer la dynamique du nitrite lors de son transport dans le réseau hydrographique et d'identifier les sources de N à l'origine des fortes concentrations observées. Bien que les travaux de cette thèse ne permettent pas d'expliquer à son terme la totalité de l'origine des fortes concentrations de nitrite dans l'eau de surface du Bras d'Henri, le suivi de ces dernières à différents endroits stratégiques à l'intérieur du micro-bassin versant lors de régimes hydrologiques contrastés a permis de caractériser certaines composantes hydrologiques ainsi que certains facteurs déterminants dans la présence et l'accumulation de nitrite. Cette étude permet de recommander le contrôle de la fertilisation azotée excessive des terres agricoles, celles-ci ayant un impact direct sur les concentrations de nitrite. De façon plus conséquente, elle permet de définir les pistes de recherche importantes et susceptibles d'orienter de façon éclairée les prochaines études.

Une technique fiable de conservation du nitrite dans l'eau douce est essentielle pour une juste évaluation de cet ion dans l'eau de surface. Devant les contradictions et les confusions des procédures standards de laboratoire, la partie initiale de notre étude a remis en questions pour le bénéfice de futurs expérimentateurs les techniques actuelles de conservation utilisées pour déterminer la concentration de nitrite total. Il s'est avéré que l'entreposage à 4°C durant une durée de 48 h des échantillons d'eau douce était la meilleure technique de conservation. Cette dernière génère des variations minimales de la teneur en nitrite comparativement à la congélation. Cette validation des techniques de conservation suggère qu'un soin particulier doit être pris lors de l'interprétation des concentrations de nitrite tirées de la littérature, puisque les bas niveaux annoncés pourraient provenir d'une conservation inadéquate par congélation des échantillons.

Sur le terrain, les niveaux de nitrite se sont avérés plus élevés dans les cours d'eau jouxtant les champs cultivés, où les apports en azote organique et minéral sont importants. Les probabilités que la concentration de nitrite dans ces cours d'eau excède les critères de qualité de l'eau pour la

protection de la vie aquatique, lors d'expositions chroniques et aiguës, étaient les plus élevées pendant les mois d'été et la période d'étiage estivale. Toutefois, il est important de mentionner que les concentrations en nitrite ont démontré une grande variabilité au sein d'un même cours d'eau ainsi que d'un cours d'eau à l'autre. Cet aspect de l'étude a permis de constater que les différences de concentration en nitrite ainsi que des autres paramètres de la qualité de l'eau à l'intérieur du micro-bassin versant résultent potentiellement en différences dans la dynamique du cycle de N. De plus, les relevés hydrogéologiques réalisés dans le micro-bassin ont montré que la qualité de l'eau souterraine alimentant les cours d'eau influence grandement la qualité de l'eau de surface et le niveau de nitrite observé. Ces conclusions indiquent qu'un suivi des différentes formes de N dans les deux cours d'eau situés dans le secteur en culture intensive est essentiel à l'interprétation et à la caractérisation des sources de N dans l'eau de surface.

La rétention du NO_2^- , NH_4^+ , NO_3^- et NT à l'intérieur du micro-bassin versant diffère d'une branche à l'autre ainsi que d'un régime hydrologique à l'autre. Principalement, une différence marquée dans la dynamique de rétention et d'exportation des ions NO_2^- et NH_4^+ entre les deux branches a permis d'appuyer l'interprétation selon laquelle la nature de l'aquifère alimentant chaque cours d'eau influence fortement la qualité de l'eau de surface. La caractérisation des eaux de résurgence et des drains agricoles, deux importantes sources de N aux cours d'eau, a démontré que leurs contributions respectives à la rétention de chaque forme de N varient à l'intérieur du bassin versant, et en fonction du régime hydrologique. De plus, les concentrations et les charges en N contenues dans l'eau de résurgence ont mis en évidence une importante activité réductrice dans les sédiments, probablement amplifiée par le dispositif d'échantillonnage inséré dans les sédiments. Il est également possible que d'autres sources de N non identifiées dans le cadre de cette étude soient à l'origine des fortes concentrations en NO_2^- observées dans les deux principales branches du micro-bassin versant puisque les contributions en N provenant de ces deux sources expliquent moins d'un tiers des exportations en NO_3^- et NT. Ces sources de N non identifiées pourraient être apportées par le ruissellement de surface, l'érosion des sols et des berges, les flux latéraux provenant des hautes berges, l'extension latérale de la zone hyporhéique ainsi que l'activité biologique dans la colonne d'eau.

6. Perspectives de recherche

6.1 L'utilisation du ^{15}N

L'ajout d'un traceur isotopique stable de ^{15}N serait très pertinent dans de futurs travaux afin de quantifier et de comparer l'importance des différents processus du cycle de l'azote à l'origine du nitrite dans l'eau de surface. Cette technique serait aussi utile dans l'étude de la rétention du NO_2^- dans les deux cours d'eau du micro-bassin versant du Bras d'Henri. Des études ont démontré l'efficacité de l'utilisation d'un traceur de ^{15}N dans la dynamique de rétention de NT , NO_3^- et NH_4^+ pour différents écosystèmes aquatiques (Peterson *et al.*, 2001; Saunder et Kalff, 2001; Mulholland *et al.*, 2008). Au-delà de l'utilisation d'un marqueur comme ^{15}N , il serait pertinent d'utiliser les signatures isotopiques du nitrite pour caractériser l'origine de la source de N (engrais synthétique ou minérale, lisiers, matière organique du sol ou précipitation) ainsi que les processus microbiologiques impliqués dans la formation du nitrite. Des études récentes ont démontré que l'utilisation de nouvelles méthodes chimiques (McIlvin et Altabet, 2005) et bactériennes (Sigman *et al.*, 2001; Casciotti *et al.*, 2002) pour déterminer la composition isotopique de l'azote et de l'oxygène en abondance naturelle dans le nitrate et le nitrite contenus dans un échantillon d'eau douce de faible concentration. Toutefois, les analyses isotopiques du nitrite sont difficiles, tant dans les systèmes naturels qu'expérimentaux car le nitrite est typiquement présent en concentration très inférieure au nitrate. Bohlke *et al.* (2007) ont récemment démontré que les analyses isotopiques sur le nitrite ont le potentiel pour devenir un outil pertinent dans l'étude des sources et des transformations du nitrite dans l'environnement.

6.2 Autres sources de N

Beaucoup de données ont été récoltées, compilées, analysées et interprétées durant ces quatre années de thèse afin d'identifier les sources à l'origine des fortes concentrations de nitrite observées dans le micro-bassin versant du Bras d'Henri. Toutefois, il serait irréaliste de considérer ces travaux comme étant achevés. En effet, la somme de la contribution en nitrate et

azote total provenant des eaux de résurgence et des drains agricoles expliquent moins d'un tiers des exportations de chacune de ces formes. Ces résultats nous indiquent que d'autres sources de N sont susceptibles de contribuer aux exportations massives de NO_3^- et NT provenant du micro-bassin versant. De plus, des sources inexplorées dans le cadre de cette étude pourraient également être l'origine des fortes concentrations de NO_2^- observées dans les deux principales branches du Bras d'Henri. Dans de futurs travaux, il sera primordial d'identifier, caractériser et évaluer les impacts associés à d'autres sources de N sur la rétention des différentes formes de N, principalement sur le nitrite. Les phénomènes de ruissellement et d'érosion du sol occasionnés lors des événements majeurs de précipitation peuvent constituer une source de N importante vers les cours d'eau. Néanmoins, il est important de mentionner qu'aucun événement de précipitations majeures n'a eu lieu pendant les périodes d'échantillonnage de cette étude, minimisant les impacts de cette source potentielle. Il serait également pertinent d'évaluer l'impact des flux latéraux provenant des hautes berges instables sur les apports en N aux cours d'eau, ceci durant les fortes précipitations. L'extension latérale de la zone hyporhéique est aussi à étudier puisqu'elle est susceptible de jouer un rôle important dans la dynamique de N au sein des petits cours d'eau. Finalement, les impacts des processus biologiques et microbiologiques à l'interface eau-sédiment ainsi que dans la colonne d'eau sont également à considérer dans le futur puisqu'elle constitue un élément clé dans le cycle de N, et donc dans la dynamique du nitrite. L'étude de ces facteurs devrait améliorer la compréhension de la dynamique du nitrite et des différentes sources à l'origine de ses niveaux élevés dans le micro-bassin versant du Bras d'Henri.

7. Références

Agriculture et agro-alimentaire Canada. 2008. Évaluation des pratiques de gestion bénéfiques à l'échelle des bassins hydrographiques. <http://www4.agr.gc.ca/AAFC-AAC/display-afficher.do?id=1185217272386&lang=fra> Accédé le 10 janvier 2009.

Alleman, J.E. 1984. Elevated nitrite occurrence in biological wastewater treatment systems. *Water Science and Technology* 17 : 409-419.

Anthonisen, A.C. 1976. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal of Water Pollution Control Federation* 48 : 853-852.

AOAC. 1995. AOAC official method 973.55 Phosphorus in water. In *Official methods of analysis of AOAC international.*, vol. 1. Agricultural Chemical; Contaminants; Drugs. 16th Ed., Arlington, Virginia.

Bae, W., Baek, S., Chung, J. and Lee, Y. 2002. Optimal operational factors for nitrite accumulation in batch reactors. *Biodegradation* 12 : 359-366.

Balmelle, B., Nguyen, K.M., Capdeville, B., Cornier, J.C. and Deguin, A. 1992. Study of factors controlling nitrite build-up in biological processes for water nitrification. *Water Science and Technology* 26 : 1017-1026.

Beutler, E. 1968. Hereditary disorders of erythrocyte metabolism. Beutler (Ed). Grune and Stratton, New York.

Birgand, F., Skaggs, R.W., Chescheir, G.M. and Gilliam, J.W. 2007. Nitrogen removal in streams of agricultural catchments : A literature review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 37: 381-487.

Boink, A. and Speijers, G. 2001. Health effect of nitrate and nitrite, a review. *ISHS Acta Horticulturae* 563 : 29-36.

Böhlke, J.K., Smith, R.L. and Hannon, J.E. 2007. Isotopic analysis of N and O in nitrite and nitrate by sequential selective bacterial reduction to N₂O. *Analytical chemistry* 79: 5888-5895.

Bowser, P.R., Falls, W.W., VanZandt, J., Collier, N. and Phillips, J.D. 1983. Methemoglobinemia in channel catfish: methods of prevention. *The Progressive Fish-Culturist* 45 : 154-158.

Bremner, J.M. and Shaw, K. 1958. Denitrification in soil. II. Factor affecting denitrification. *Journal of Agricultural Science* 51 : 40-52.

Brown, D.A. and McLeay, D.J. 1975. Effect of nitrite on methemoglobin and total haemoglobin of juvenile rainbow trout. *The Progressive Fish-Culturist* 37 : 36-38.

Bruning-Fann, C.S. and Kaneene, J.B. 1993. The effects of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds on human health: review. *Veterinary and Human Toxicology* 35 : 521-538.

Burgin, A.J. and Hamilton, S.K. 2008. NO₃⁻-driven SO₄²⁻ production in freshwater ecosystems: Implications for N and S cycling. *Ecosystems* 11 : 908-922.

Burns, L.C., Stevens, R.J., Smith, R.V. and Cooper, J.E. 1995. The occurrence and possible sources of nitrite in a grazed, fertilized, grassland soil. *Soil Biology and Biochemistry* 27 : 47-59.

Cameron, J.N. 1971. Methemoglobin in erythrocytes of rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology* 40 : 743-749.

Casciotti, K.L., Sigman, D.M., Galanter Hastings, M., Böhlke, J.K., Hilkert, A. 2002. Measurement of the oxygen isotopic composition of nitrate in seawater and freshwater using the denitrifier method. *Analytical Chemistry* 74 : 4905-4912.

Clough, T.J., Stevens, R.J. Laughlin, R.J., Sherlock, R.R. and Cameron, K.C. 2001. Transformations of inorganic-N in soil leachate under differing storage conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 33 : 1473-1480.

Coles, J.A. 1988. Nitrate reduction to ammonium by bacteria. In: *The nitrogen and sulphur cycles*. Coles and Ferguson (Eds), Cambridge University Press, Cambridge.

Conseil canadien des ministres de l'environnement. 2007. De la source au robinet : Nitrate et Nitrite. <http://www.ccme.ca/sourcetotap/nitrates.html> Accédé le 27 septembre 2007.

Corriveau, J. 2005. Étude temporelle des émissions hivernales de protoxyde d'azote d'une parcelle agricole. Québec, Mémoire de maîtrise Institut National de la Recherche Scientifique - Eau, Terre et Environnement.

Corriveau, J., van Bochove, E., Bégin, G. and Cluis, D. 2008. Effect of preservation techniques on the determination of nitrite in freshwater samples. *Water, Air and Soil Pollution* 193 : 335-342.

Corriveau, J., van Bochove, E. and Cluis, D. 2009. Sources of nitrite in streams of an intensively cropped watershed. (Accepted *Water Environment Research*).

Corriveau, J., van Bochove, E., Savard, M. M., Cluis, D and Paradis, D. 2009. Occurrence of high in-stream nitrite levels in a temperate region agricultural watershed. *Water, Air and Soil Pollution* DOI 10.1007/s11270-009-0109-6.

Crawford, R.E. and Allen, G.H. 1977. Seawater inhibition of nitrite toxicity to Chinook salmon. *Transactions of the American Fisheries Society* 106 : 105-109.

Eaton, A. D., Clesceri, L. S. and Greenberg, A. E. 1995. *Standard Methods of the examination of water and wastewater*, 19th edition. Eaton, A.D., Clesceri, L.S. and Greenberg, A.E (Eds), American Public Health Association, Washington.

Eddy, F. B. and Williams, E.M. 1987. Nitrite and freshwater fish. *Chemistry and Ecology* : 3 1–38.

Ehrlich, G.G., and Slack, K.V. 1969. Uptake and assimilation of nitrogen in microecological systems, In: *Microorganic Matter in Water*. ASTM (Eds), American Society for Testing and Materials, Philadelphia.

European Community. 1998. Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. *Official Journal of the European Communities* 98/83/EC, Brussels.

European Community. 2006. Directive 2006/44/EC of the European Parliament and of the Council of 6 September 2006 on the quality of fresh waters needing protection or improvement in order to support fish life. *Official Journal of the European Union* 2006/44/CE, Strasbourg.

European Economic Community. 1978. A directive of the quality of freshwater needing protection or improvement in order to support fish life. EEC 78/695. EEC, Brussels.

European Economic Community. 1980. A directive relating to the quality of water intended for human consumption. EEC 80/77. EEC, Brussels.

Fleckenstein, J.H., Niswonger, R.G. and Fogg, G.E. 2006. River-aquifer interactions, geologic heterogeneity, and low-flow management. *Ground Water* 44 (6): 837-852.

Georges, U.A. and Antoine, A.D. 1982. Denitrification Potential of a salt marsh soil: effect of temperature, pH and substrate concentration. *Soil Biology and Biochemistry* 14 : 117-125.

Goyal, S.S., and Hafez, A.A.R. 1995. Phosphate-catalyzed decomposition of nitrite to nitrate during freezing and thawing of solutions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 43: 2641–2645.

Hargreaves , J.A. 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture* 166 : 181-212.

Hébert, S. and Légaré, S. 2000. Suivi de la qualité des rivières et petits cours d'eau, Québec, Direction du suivi de l'état de l'environnement, ministère de l'Environnement, envirodoq n° ENV-2001-0141, rapport n° QE-123,24 p. et 3 annexes.

Huey, D.W. and Beitinger, T.L. 1980. Toxicity of nitrite to larvae of the salamander *Ambystoma texanum*. *Bulletin of environmental contamination and Toxicology* 25 : 909-912.

Huey, D.W. Simco, B.A., and Criswell, D.W. 1980. Nitrite-induced methemoglobin formation in channel catfish. *Transactions of the American Fisheries Society* 109 : 558-562.

Kahlert, M. and Neumann, D. 1997. Early development of freshwater sponges under the influence of nitrite and pH. *Archiv für Hydrobiologie* 139 : 69-81.

Kampbell, D.H., Wilson, J.T. and Vandegrift, S.A. 1989. Dissolved oxygen and methane in water by a GC headspace equilibration technique. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 36 : 249-257.

Keeney, D.R. and Nelson, D.W. 1982. Nitrogen-inorganic forms. In: *Methods of soils analysis - Part 2*, 2nd Ed. Agron. Monogr. 9. Page *et al.* (Eds). ASA and SSSA, Madison, WI.

Kelso, B.H.L., Smith, R.V., Laughlin, R.J. and Lennox, S.D. 1997. Dissimilatory nitrate reduction in anaerobic sediments leading to river nitrite accumulation. *Applied and Environmental Microbiology* 63 : 4679-4685.

Kelso, B.H.L., Glass, D.M. and Smith, R.V. 1999. Toxicity of nitrite to freshwater invertebrates. In : *Managing risks of nitrates to humans and the environment*. Wilson, W.S., Ball, D.M. and Hinton, R.H. (Eds), Royal Society of Chemistry, Cambridge:

Knowles, R. 1982. Denitrification. *Microbiological Reviews* 46 : 43-70.

Kopecky, M. 2004. Possibilities of prognosis of origin of landslides in Slovakia based on climatic and hydrogeologic conditions. *Sborník vědeckých prací Vysoké školy báňské – Technické univerzity Ostrava, Řada hornicko-geologická, Volume L (2) : 63-72.*

Kroupova, H., MaChova, J., and Svobodova, Z. (2005). Nitrite influence on fish: a review. *Veterinary Medicine—Czech* 50 : 461–471.

Kuenen, J.G. and Robertson, L.A. 1988. Nitrification and Denitrification. In: *The nitrogen and sulphur cycles*. Coles and Ferguson Eds, Cambridge University Press, Cambridge.

Lee, D.R. 1977. A device for measuring seepage flux in lakes and estuaries. *Limnology and Oceanography* 22(1) : 140-147

Lewis, W.M. and Morris, D.P. 1986. Toxicity of nitrite to fish: A review. *Transactions of the American Fisheries Society* 115 : 183-195.

Libelo, E.L. and MacIntyre, W.G. 1994. Effects of surface-water movement on seepage-meter measurements of flow through the sediment-water interface. *Hydrogeology Journal* 2 : 49–54.

Marti, E. and Sabater, F. 1996. High variability in temporal and spatial nutrient retention in Mediterranean streams. *Ecology* 77, 854-869.

McIlvin, M.R. and Altabet, M.A. 2005. Chemical conversion of nitrate and nitrite to nitrous oxide for nitrogen and oxygen isotopic analysis in freshwater and seawater. *Analytical Chemistry* 77 : 5589-5595.

Meybeck, M. 1982. Carbon, nitrogen, and phosphorus transport by world rivers. *American Journal of Science* 282 : 401-450.

Ministère de l'environnement et de la faune. 1998. Critères de qualité de l'eau de surface au Québec. Direction des écosystèmes aquatiques, ministère de l'environnement et de la faune du Québec, Québec.

Mulholland, P.J., Helton, A.M., Poole, G.C., Hall, R.O. Jr, 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. and Thomas, S.M. 2008. Stream denitrification across biomes and its response to anthropogenic nitrate loading. *Nature* 452 (13) : 202-206.

Neumann, D., Kramer, M., Raschke, I. and Grafe, B. 2001. Detrimental effects of nitrite on the development of benthic *Chironomus* larvae, in relation to their settlement in muddy sediments. *Archiv für Hydrobiologie* 153 (1) : 103-128.

Nkonge, C. and Ballance, G.M. 1982. A sensitive colorimetric procedure for nitrogen determination in micro-Kjeldahl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 30 : 416-420.

Paul, J.W. and Beauchamp, E.G. 1989. Denitrification and fermentation in plant-residue-amended soil. *Biology and Fertility of Soils* 7 : 303-309.

Paul, E.A. and Clarke F.E. 1996. *Soil microbiology and biochemistry*. 2nd Edition. Academic Press, San Diego.

Payne, W.J. and Riley, P.S. 1969. Suppression by nitrate of enzymatic reduction of nitric oxide. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine* 132 : 258-260.

Perrone, S.J. and Meade, T.L. 1977. Protective effect of chloride on nitrite toxicity to Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 34 : 436-492.

Peterson, B.J., Wollheim, W.M., Mulholland, P.J., Webster, J.R., Meyer, J.L., Tank, J.L., Marti, E., Bowden, W.B., Valett, H.M., Hershey, A.E., McDowell, W.H., Dodds, W.K., Hamilton, S.K., Gregory, S. and Morrall, D.D. 2001. Control of nitrogen export from watersheds by headwater streams. *Science* 292 : 86-90.

Ponnamperuma, F.N. 1972. The chemistry of submerged soils. *Advances in Agronomy* 24 : 29-96.

Proctor, R.R. 1962. Stabilization of the nitrite content of sea water by freezing. *Limnology and Oceanography* 7 : 479-480.

Regierungspräsidium Gießen (Eds). 1994. Modellhafte Erarbeitung eines ökologisch begründeten Sanierungskonzeptes für kleine Fließgewässer am Beispiel der Lahn (Modelling the objectives of an ecological reconstruction draft for small running waters exemplified by the River Lahn). BMFT-Projekt, Endbericht.

Russo, R.C., Smith, C.E. and Thurston, E.V. 1974. Acute toxicity of nitrite to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 31 (10) : 1653-1655.

Russo, R.C., Thurston, R.V. and Emerson, K. 1981. Acute toxicity of nitrite to rainbow trout (*Salmo gairdneri*): effect of pH, nitrite species, and anion species. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38 : 387-393.

Santé et bien-être social Canada. 1997. Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada. 6th ed. Ottawa: Ottawa : Santé et bien-être social Canada.

Saunders, D.L. and Kalff, J. 2001. Nitrogen retention in wetlands, lakes and rivers. *Hydrobiologia* 443 : 205-212.

Schafran, G.C. and Driscoll, C.T. 1993. Flow path-composition relationship for groundwater entering an acidic lake. *Water Resources Research* 29 : 145-154.

Shaw, R.D. and Prepas, E.E. 1989. Anomalous, short-term influx of water into seepage meters
Limnology and Oceanography 34(7) : 1343-1351.

Sigman, D.M., Casciotti, K.L., Andreani, M., Barford, C., Galanter, M., Böhlke, J.K., 2001. A bacterial method for nitrogen isotopic analysis of nitrate in seawater and freshwater. *Analytical Chemistry* 73 : 4145-4153.

Smith, C.E. and Russo, R.C. 1975. Nitrite-induced methemoglobinemia in rainbow trout. *Progressive Fish-Culturist* 37 : 150-151.

Smith, C.E. and William, W.G. 1974. Experimental nitrite toxicity in rainbow trout and Chinook salmon. *Transactions of the American Fisheries Society* 103 : 389-390.

Smith, M.S. 1982. Dissimilatory reduction of NO_2^- to NH_4^+ and N_2O by a soil *Citrobacter sp.* *Applied and Environmental Microbiology* 43 : 854-860.

Smith, M.S. and Zimmerman, K. 1981. Nitrous oxide by nondentrifying soil nitrate reducers. *Soil Science Society America Journal* 45 : 865-871.

Smith, R.V., Foy, R.H., Lennox, S.D., Jordan, C., Burns, J.E., Cooper, J.E. and Stevens, R.J. 1995. Occurrence of nitrite in the Lough Neagh River system. *Journal of Environmental Quality* 24 : 952-959.

Stief, P., De Beer, D. and Neumann, D. 2002. Small-scale distribution of interstitial nitrite in freshwater sediment microcosms: The role of nitrate and oxygen availability, and sediment permeability. *Microbial Ecology* 43 : 367-378.

Stief, P. and Neumann, D. 1998. Nitrite formation in sediment cores from nitrate-enriched running water. *Arch. Hydrobiologia* 142 : 153-169.

Takenaka, N., Ueda, A. and Maeda, Y. 1992. Acceleration of the rate of nitrite oxidation by freezing in aqueous solution. *Nature* 358 : 736-738.

Thurston, R.V., Russo, R.C. and Smith, C.E. 1978. Acute toxicity of ammonia and nitrite to cutthroat trout fry. *Transactions of the American Fisheries Society* 107 (2) : 361-368.

Tiedje, J.M., Sexton, A.J., Myrold, D.D. and Robinson, J.A. 1982. Denitrification: ecological niches, competition and survival. *Antonie van Leeuwenhoek* 48 : 569-583.

Tomasso, J.R., Simco, B.A. and Davis, K.B. 1979. Chloride inhibition of nitrite-induced methemoglobinemia in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 36 : 1141-1144.

Triska, F.J., Kennedy, V.C., Avanzino, R.J., Zellweger, G.W., and Bencala, K.E. 1989. Retention and transport of nutrients in a third-order stream in northwestern California: Hyporheic processes, *Ecology* 70, 1893-1905.

Turtura, G.C. and De Pascale, A. 1991. Qualità delle acque irrigue di Malalbergo (Bologna). *Annals of Microbiology*. 41 : 81-100.

van Bochove, E., Dechmi, F., Nolin, M.C., Chantigny, M.H., Lemieux, C., Thériault, G., Lalande, R. and Corriveau, J. 2005. Evaluation of beneficial agricultural management practices on water quality at edge-of-field and micro-watershed scales in Southern Quebec, Canada. *Proceedings of the International Water Association, 9th Diffuse Pollution Conference, August 16-19, Johannesburg, South Africa.*

van Bochove, E., Jones, H.G., Pelletier, F. and Prévost, D. 1996. Emission of N₂O from agricultural soil under snow cover: a significant part of N budget. *Hydrological Processes* 10 : 1545-1549.

van Bochove, E., Thériault, G., Rochette, P., Jones, H.G. and Pomeroy, J.W. 2001. Thick ice layers in snow and frozen soil affecting gas emissions from agricultural soils during winter. *Journal of Geophysical Research - Atmosphere* 106 : 23,061-23,071.

Vanzella, A., Guerrero, M.A. and Jones, R.D. 1990. Recovery of nitrification in marine bacteria following exposure to carbon monoxide or light. *Marine Ecology Progress Series* 60 : 91-63.

von der Wiesche, M. and Wetzel, A. 1998. Temporal and spatial dynamics of nitrite accumulation in the River Lahn. *Water Research* 32 : 1635-1661.

Wedemeyer, G.A. and Yasutake, W.T. 1978. Prevention and treatment of nitrite toxicity in juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 35 : 822-827.

Westin, D. T. 1974. Nitrate and nitrite toxicity to salmonid fishes. *The Progressive Fish-Culturist* 36 : 86-89.

Woessner, W. W. 2000. Stream and fluvial plain ground water interactions: rescaling Hydrogeologic thought. *Ground water* 38 (3) : 423-429.



SECTION 2 : ARTICLES



8. Article 1 : Effets des différentes techniques de préservation sur la détermination de la concentration en nitrite dans les échantillons d'eau douce

Résumé

Face aux idées acceptées sur la conservation de nitrite dans l'eau douce, cette note présente des expériences remettant en question les procédures standards de laboratoires afin de mettre en garde les expérimentateurs déterminant la concentration de nitrite total plutôt que la concentration de nitrate plus nitrite. Pour valider la technique adéquate de conservation pour le nitrite, nous avons réalisé une série de trois expériences examinant les effets de la filtration, de la congélation et du vieillissement sur les concentrations initiales de nitrite observées dans des échantillons d'eau douce collectés dans un bassin versant à vocation agricole. Les résultats des expériences ne démontrent aucune adsorption ou dilution des concentrations de nitrite lors de la filtration. Néanmoins, nous recommandons l'utilisation de la filtration uniquement lorsque la turbidité des échantillons est visible afin d'éviter toute source de contamination avec le matériel du laboratoire pendant les manipulations. De plus, les résultats indiquent que la congélation des échantillons induit une diminution significative des concentrations en nitrite tandis que l'entreposage à long terme des échantillons à 4°C induit une faible variabilité des concentrations de nitrite. En conséquence, nous mettons en garde contre l'utilisation de congélation comme technique de conservation pour l'analyse en nitrite des échantillons d'eau douce et recommandons plutôt l'entreposage de ces derniers à 4°C pour la durée de 48 h.

Mots clés: *nitrite; conservation; eau douce; congélation; filtration; entreposage*



Effect of Preservation Techniques on the Determination of Nitrite in Freshwater Samples

Julie Corriveau · Eric van Bochove ·
Geneviève Bégin · Daniel Cluis

Received: 23 September 2007 / Accepted: 17 March 2008 / Published online: 9 May 2008
© Springer Science + Business Media B.V. 2008

Abstract In the view of accepted ideas about the preservation of nitrite in freshwater, this short note presents experiments questioning standard laboratories procedures and tries to be a caveat to experimenters looking for sole total nitrite values more than for total nitrate plus nitrite concentrations. To validate an adequate preservation technique for nitrite, we realized a series of three experiments investigating the effect of filtration, freezing and ageing on initial nitrite concentrations found in freshwater samples collected in an agricultural watershed. Experiment results demonstrate no adsorption or dilution of NO_2^- concentrations during filtration. Nonetheless, we recommend using filtration only when sample turbid-

ity is visible at the eye to avoid any contamination with laboratory materials during manipulations. Furthermore, results also indicate that freezing samples induces a significant decrease of NO_2^- concentrations whereas the long term storage at 4°C of samples induces a smaller variability on nitrite concentrations. In consequence, we forbid the use of freezing as a preservation technique for nitrite analysis from freshwater samples and rather recommend storage of samples at 4°C for a period of 48 h.

Keywords Nitrite · Preservation · Freshwater · Freezing · Filtration · Storage

J. Corriveau (✉) · D. Cluis
Institut National de la Recherche Scientifique,
Eau, terre et environnement,
490 de la Couronne,
Quebec, QC, Canada G1K 9A9
e-mail: julie_corriveau@ete.inrs.ca

D. Cluis
e-mail: cluis@ete.inrs.ca

E. van Bochove · G. Bégin
Soils and Crops Research and Development Centre,
Agriculture and Agri-food Canada,
2560 Hochelaga Blvd,
Quebec, QC, Canada G1V 2J3

E. van Bochove
e-mail: vanbochovee@agr.gc.ca

G. Bégin
e-mail: beging@agr.gc.ca

1 Introduction

Accurate measurements of nitrite are essential to assess the presence and the accumulation of this toxic ion in surface water, particularly in agricultural environment where concentrations may be significant. In province of Quebec, Canada, nitrite criteria in surface water quality for chronic effect and acute toxicity on aquatic life are respectively 0.02 and 0.06 mg $\text{NO}_2\text{-N L}^{-1}$ (MEF 1998). However, during the time interval between samples collection and analyse; physical, chemical and microbiological processes may alter initial concentrations of nitrite in water samples. Therefore, an adequate preservation technique is needed to maintain the initial nitrite concentrations during sample storage within the level of

accuracy required (Dore et al. 1996). Two main preservation techniques are currently used in laboratories for freshwater samples: acidification and freezing. Acidification consists of a microbial inhibition which may suppress biological reactions but may also induce or fail to prevent chemical reactions (Clough et al. 2001). Therefore, freezing samples in high density polyethylene (HDPE) bottles is generally preferred because it is believed to prevent sample transformation and maintain the initial analyte concentration, as well as being a simple, easy and rapid method (Dore et al. 1996; Clough et al. 2001). However, the large amount of existing literature presents varied and often contradictory opinions on the effectiveness of preservation techniques (Dore et al. 1996). As for nitrite preservation, considerable confusion persists on the adequate technique to use, mainly because it depends on whether the total nitrite plus nitrate ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) or the sole total nitrite (NO_2^-) concentration is determined. Although all standard reference works on total nitrite determination agree on never to use acidification to preserve water samples because it accelerates nitrite to nitrate conversion; they are not clear about the use of freezing for preservation. APHA (1995) and Nollet (2000) recommended to store at 4°C or to freeze samples when analyses can not be performed immediately. In contrast, other methods only refer to samples storage at 4°C for a maximum period of 48 h (EPA 1990; NCDWQ 2005; CEAEQ 2007). Since chemical preservation techniques may alter freshwater samples depending on nitrite concentration, we have investigated the impacts of two physical preservation techniques, freezing and storage at 4°C. Moreover, the effect of filtration on low nitrite concentration ($<0.08 \text{ mg N L}^{-1}$) samples is also studied.

In a preliminary experiment, we have frozen laboratory controls with different nitrite concentrations to assess the influence of freezing. During analyses, we observed a significant decrease of nitrite concentrations in thawed controls. This observation led us to assume that freezing also induces a decrease in nitrite concentrations for water samples. These results may indicate that low nitrite concentrations reported in water quality monitoring studies could originate from an inadequate preservation method. To our knowledge, no study seems to have ever investigated the impact of nitrite preservation in freshwater samples. Some authors have reported

nitrite preservation techniques for medium other than freshwater. Proctor (1962) recommended that all sea water samples on which nitrite analyses are to be performed at a later date should be frozen as soon as possible after collection. Charpiot (1969) suggested using 4°C storage instead of freezing for nitrite preservation of sea water samples because freezing may induce a slight increase in concentrations or erroneous values depending on the depth at which samples are collected. Chapman and Mostert (1990) also studied the effect of freezing on nitrite concentration in sea water samples. They concluded that freezing at low nitrite concentrations found in sea water ($<0.014 \text{ N L}^{-1}$) may introduce considerable variability in results and may also let the regression slope departed from unity. Clough et al. (2001) have reported chemical reactions involving NO_2^- oxidation in soil leachates and KCl extracts, particularly at pH 4.5 and -20°C . Furthermore, Takenaka et al. (1992) demonstrated that nitrite oxidation and the conversion ratio of nitrite to nitrate increased with decreasing pH in freezing rain or fog samples, when pH is 6 and below. In view of the discrepancies among the different studies, we have conducted three experiments to investigate problems related to nitrite preservation in freshwater samples collected in an agricultural watershed. Colorimetric method was chosen over ion chromatography for nitrite determination in all experiments because it is a standard laboratory procedure and a more efficient method. Indeed, this method is easy to use and the coloration is stable for 1 h. Even if this method has a higher detection limit, between 0.0001 and 0.0008 mg N L^{-1} than ion chromatography, the samples stay a shorter time before manual determination than in the case of ion chromatography determination with auto sampler, which may reduce nitrite transformation in samples at room temperature. In the first experiment, we compared the effect of sample filtration on the alteration of initial nitrite concentrations because this step is often integrated in the laboratory protocols and that this procedure may have a significant impact in the case of low i.e. below $0.1 \text{ NO}_2\text{-N L}^{-1}$. Secondly, we studied the use of freezing as a preservation technique before nitrite analysis. Thirdly, we investigated the changes of nitrite concentration in water samples through a week of storage at 4°C to report the effect of the ageing process before analysis.

2 Materials and Methods

2.1 Samples Collection and Laboratory Analyses

The watershed evaluation of beneficial agricultural management practices on water quality (WEBs) project was used to collect surface water samples containing a wide range of nitrite concentrations (van Bochove et al. 2005). Water samples were taken in the Bras Henri watershed located within the agro-climatic region of Chaudiere-Appalaches in southern Quebec, which is an intensive cropping and livestock area. A series of experiments were conducted to investigate the effect of filtration, freezing and ageing on initial nitrite concentrations found in freshwater samples. For each experiment, ten samples were collected in 1 L HDPE bottles at ten different sites within the Bras Henri watershed. All water samples were collected at approximately 5 to 10 cm under the surface, with the method recommended by Hébert and Légaré (2000). Each experiment was repeated two or three times to get a representative response of each of the tested factors. Prior to sampling, collection bottles were washed with Extran soap (EDM Chemical Inc., NJ), rinsed three times with deionised water, acid washed during 2 h with 10% HCl, rinsed three times with deionised water, and completely air dried. At sampling time, each bottle was rinsed once with stream water. All samples were stored at 4°C in a cooler and transported within 2 h to the laboratory for immediate analysis. Nitrite concentrations were determined by colorimetry using the manual spectrophotometer method (Keeney and Nelson 1982). This method was modified to determine nitrite concentration in water by using bi-distilled water instead of KCl 2 M in stock and standard solutions. Nitrite internal controls, from 0.01 to 0.8 mg N L⁻¹, were used in sufficient volume for the series of experiments. All samples and controls were analysed in triplicates, from which the mean value was retained.

2.2 Impact of Filtration on Nitrite

An experiment was conducted to assess sample integrity during filtration. Indeed, laboratory manipulations may enhance nitrite contamination, dilution and/or ion adsorption on the filter. This experiment considered two factors related to laboratory manipu-

lations: the filtration itself and the handling of filtrations by technicians. The analyses of ten water samples and two controls were completed within 6 h after water collection. During this time bottles were always stored at 4°C. An aliquot of 250 mL of each homogenized samples and two controls were vacuum filtered through a 0.45 µm nylon membrane filter (Pall Life Sciences, MI) pre-washed using two time 40 mL of deionised water. Nitrite analyses were conducted on ten samples and two controls, both unfiltered and filtered. Two different technicians accustomed to the filtration and analytical methods executed these procedures. The entire experiment was repeated two times. Regression analyses of nitrite concentrations from filtered and unfiltered water samples were achieved for the two different technicians handling filtration. The slope and *y*-intercept values of the relationship were compared with a theoretical 45° line using Student *t* tests ($p < 0.05$). Furthermore, performed Shapiro–Wilk test demonstrated that NO₂⁻ concentrations from unfiltered and filtered water samples were normally distributed ($W > 0.8$; $p < 0.05$). This test is considered to be the most useful for small sample size (Shapiro and Wilk 1965). Therefore, a factorial analysis of variance (ANOVA) of two factors was used to test the main effects of filtration and of the technician handling filtration, as well as the interaction between the two factors ($p < 0.05$). Statistical analyses were performed with STATISTICA 6.0.

2.3 Impact of Freezing on Nitrite Preservation

The second experiment was performed to assess that initial nitrite concentration in water samples is preserved when freezing is used as a preservation method. Actually, there is substantial uncertainties and contradictions among official standard methods concerning the use of freezing for nitrite preservation in freshwater samples. This experiment considered two factors: the freezing and the duration of freezing. Ten water samples and two controls were also analysed within 6 h of collection. All analyses were completed on unfiltered samples and controls since no turbidity was visible at the eye. Prior to analysis, five sub-samples were collected in 60 mL HDPE bottles from each samples and controls, and immediately frozen at -17°C during varying durations: 1 week, 2 weeks, 4 weeks, 3 months and 6 months. Sub-samples

were thawed at room temperature within 2 h and regularly manually agitated to homogenize the water temperature of samples at the end of each freezing period. The experiment was performed in triplicate, except for the 3 months freezing period which was repeated only twice. Regression analyses of the results for frozen versus fresh nitrite concentrations were performed for the different freezing durations. The slope and y -intercept values of the relation were compared with a theoretical total agreement regression using Student t tests ($p < 0.05$). Furthermore, the Shapiro–Wilk test was used to verify the normal distribution hypothesis of nitrite concentrations in fresh and frozen water samples ($W > 0.8$, $p > 0.05$). The W value showed that nitrite concentrations failed the test of normality. Therefore, the Kruskal–Wallis ANOVA test, a non-parametric one-way analysis of variance, was used to compare nitrite concentration medians between fresh samples and frozen samples for the different durations ($p < 0.05$). Subsequently, Mann–Whitney U tests were performed, as post hoc test, to compare medians on pairs ($p < 0.05$ and $p < 0.10$). Statistical analyses were also executed with STATISTICA 6.0.

2.4 Impact of Nitrite Preservation in Samples Stored at 4°C

The third experiment was achieved to measure the change of nitrite concentrations through a 1 week storage at 4°C in order to validate current laboratory procedures which assess that nitrite is rapidly converted in nitrate. The ageing experiment was conducted from the same samples used in the previous experiments. The ten water samples and two controls were analysed as mentioned previously and then, stored in the refrigerator at 4°C. Everyday during the following week, an aliquot was taken from all samples and controls, and analysed. All analyses were completed on unfiltered samples and controls. This experiment was repeated three times. Regression analyses of nitrite concentrations from the old versus the original freshwater samples were realized for the different periods. The slope and y -intercept values in the relationship between original and measured values were compared using Student t tests ($p < 0.05$). As sample distribution failed the Shapiro–Wilk test of normal distribution for nitrite concentrations in fresh and aged samples ($W > 0.8$, $p > 0.05$), a Kruskal–Wallis

ANOVA was performed to compare medians of nitrite concentrations in fresh and aged samples. Like other experiments, statistical analyses were performed with STATISTICA 6.0.

3 Results

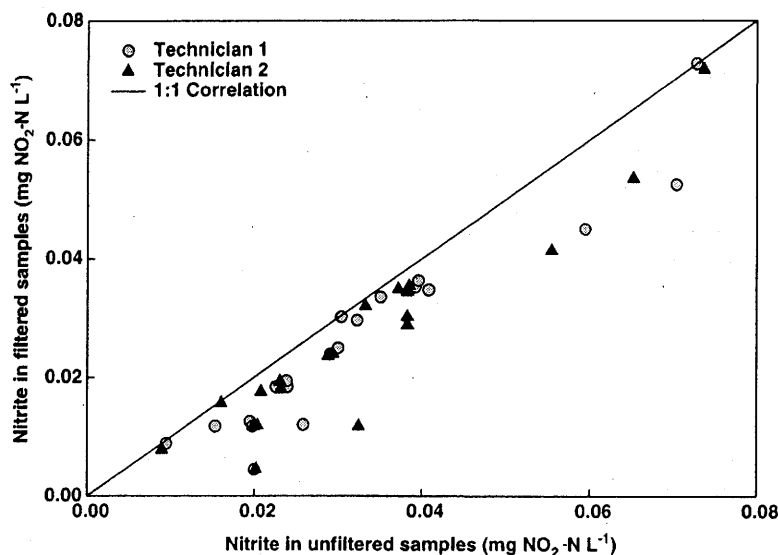
3.1 Impact of Sample Filtration on Nitrite

Regression analyses were performed to evaluate the relationship between NO_2^- concentrations from filtered and unfiltered samples, by two different technicians used to handle laboratory manipulations. Data are shown on Fig. 1, and relevant statistical information on Table 1. The plot demonstrates a slight NO_2^- deficit from initial concentrations after filtration whereas both correlation coefficients are around 95%. The performed Student t tests indicates no significant ($\alpha = 0.05$) deviation from a 1:1 correspondence for filtered samples by the two technicians. Furthermore, as concentration values were normally distributed, the factorial ANOVA performed demonstrates no significant ($\alpha = 0.05$) difference between filtered and unfiltered samples and no significant concentrations differences between the two technicians. The interaction between the influence of technician and the filtration itself on samples is also not significant. These results indicate that no significant loss or contamination on nitrite concentrations occurred during filtration. However, it is important to note that the percentage of error on NO_2^- concentration induced by laboratory manipulations increases in the case of smaller initial concentrations.

3.2 Impact of Sample Freezing on Nitrite Preservation

The relation between NO_2^- concentrations from fresh and frozen samples is reported on Fig. 2 and statistical information are given in Table 2. Results indicate a deviation from the initial concentrations in samples for all frozen periods. As shown in Table 2, 1-week and 6-month freezing intervals have a lower r coefficient. The lower r coefficient and the higher standard error for the 1 week period are mainly induced by one sample, which demonstrated a very large NO_2^- decreased after freezing. This important decrease is only observed once in all experiments carried out. The low standard error of the r coefficient

Fig. 1 Comparison of nitrite concentrations from unfiltered and filtered samples performed by two different laboratory technicians



for the 6-month interval is representative of the relationship between fresh and frozen samples. Nonetheless, Student *t* tests revealed that all slopes are significantly ($\alpha=0.05$) different from 1 and all *y*-intercepts are not significantly different from zero. These observations indicate that frozen freshwater samples characterized by higher NO_2^- concentrations may be more prone to greater nitrite deficit than samples with lower NO_2^- concentration. Furthermore, the performed Kruskal–Wallis ANOVA revealed that the NO_2^- concentration medians are not always the

Table 1 Parameters indicating relevant statistical information between nitrite concentrations from unfiltered and filtered samples by two different technicians

Laboratory manipulations	<i>N</i>	<i>r</i>	<i>m</i>	<i>b</i>	ANOVA ^a
Filtration (F)	20	0.953*	0.928 (0.070)	-0.004 (0.003)	NS
Technician (T)	20	0.945*	0.945 (0.077)	-0.005 (0.003)	NS
F × T	20	0.993*	0.975 (0.018)	0.000 (0.000)	NS

Numbers in parenthesis are standard error.

N Number of sampled analysed, *r* Pearson correlation coefficient, *m* slope of linear regression equation (standard error), *b* *y*-intercept of linear regression equation, NS not significantly different to NO_2^- initial concentrations

**p*=0.05

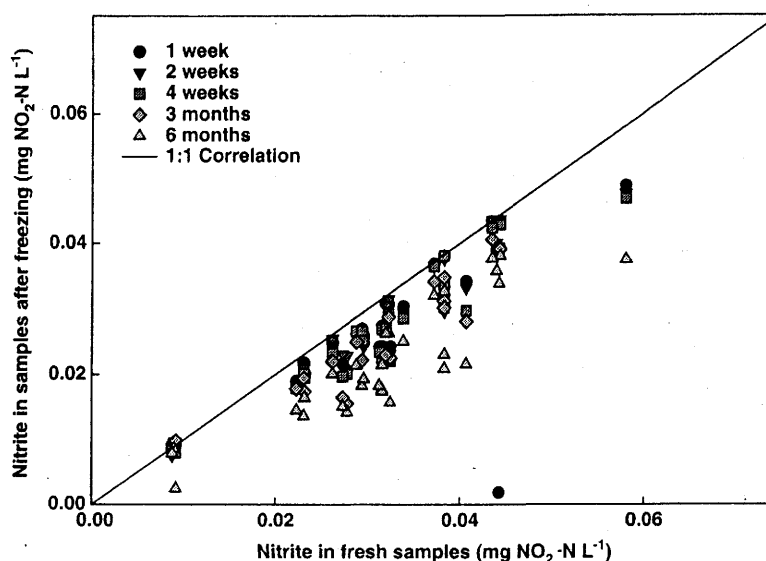
^aFactorial ANOVA, significantly different than the NO_2^- unfiltered concentration (*p*<0.05)

same between fresh and different frozen periods. In order to establish which groups are different, Mann–Whitney post-hoc tests were used to investigate differences between each pair of sampled periods. In Table 2, results indicate that NO_2^- concentrations of fresh samples are significantly different ($\alpha<0.05$) from NO_2^- concentrations of samples frozen during 1-week, 4-week, 3-months and 6-months, whereas samples frozen during 2-week are only significantly different from fresh samples at a significance level of 0.10. Moreover, results also showed that the freezing duration influences the NO_2^- preservation. In Table 2, samples frozen for 1-week and 4-week are not significantly different. On the other hand, samples frozen during 3-month and 6-month are also not significantly different. However, those two groups are significantly different from each other, while samples frozen for 2-week are not significantly different of any group. At the light of those results, freezing introduces a decrease and more variability in NO_2^- concentrations measured in freshwater samples.

3.3 Impact of Nitrite Preservation in Samples Stored at 4°C

Nitrite correlations between fresh and ageing samples are presented on Fig. 3, with statistical information on Table 3. Although the *r* coefficients indicate near perfect relationships, the plot shows an apparent NO_2^- decrease induced by samples storage at 4°C. The Student *t* tests show that all slopes are signifi-

Fig. 2 Comparison of nitrite concentrations between fresh and frozen samples characterized by five different freezing durations



cantly ($\alpha=0.05$) different from 1 whereas y -intercepts are not significantly ($\alpha=0.05$) different from zero. Furthermore, results from the performed Kruskal–Wallis ANOVA indicate no significant difference between fresh samples and aged samples up to a 7-day. These observations indicate that samples storage at 4°C induces some variability without significantly decreasing NO_2^- concentrations.

Table 2 Parameters indicating relevant statistical information between nitrite concentrations in fresh samples and frozen samples from each different freezing durations

Freezing interval	N	r	m	b	U^a	U^b
1 week	30	0.754	0.749 ^c (0.124)	0.003 (0.004)	*	a
2 weeks	30	0.959	0.872 ^c (0.049)	0.000 (0.002)	**	a,b
4 weeks	30	0.952	0.868 ^c (0.053)	0.000 (0.002)	*	a
3 months	20	0.922	0.833 ^c (0.082)	0.000 (0.003)	*	b
6 months	30	0.881	0.756 ^c (0.074)	-0.002 (0.003)	*	b

Numbers in parentheses are standard error.

N Number of sampled analysed, r Pearson correlation coefficient, m slope of linear regression equation, b y -intercept of linear regression equation

* $p=0.05$; ** $p=0.10$

^a Mann–Whitney test, significantly different than the NO_2^- initial concentration

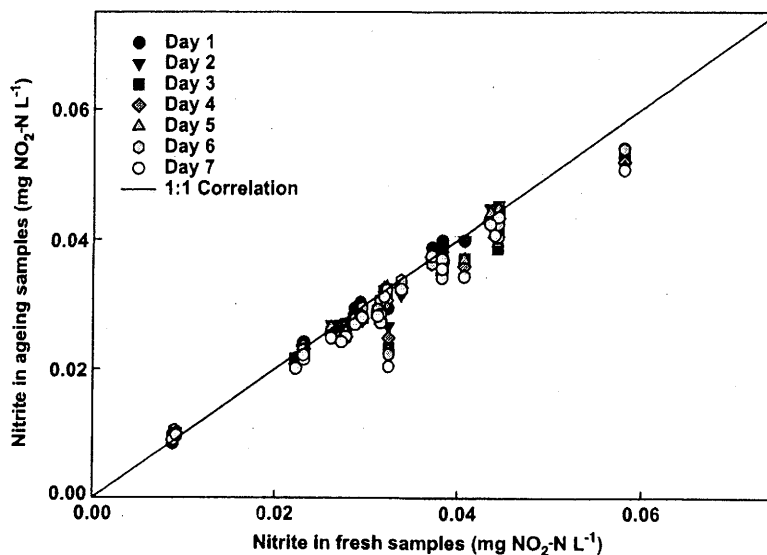
^b Mann–Whitney test, same letter indicate that medians of nitrite concentration are not significantly different ($p<0.05$)

^c Significantly different from the theoretical slope of 1 ($p<0.05$)

4 Discussion

The present results suggest that no adsorption or dilution of water samples occurred during filtration. However, we recommend using filtration only when sample turbidity is visible at the eye in order to avoid any potential contamination with laboratory materials during manipulations. Furthermore, we also recommend to pre-wash filters to minimise samples contamination with an external nitrite source. Results of the second experiment demonstrate that older frozen samples lose significant NO_2^- compared with initial amount of NO_2^- measured in fresh samples. Goyal and Hafez (1995) demonstrated that freezing–thawing greatly increased the NO_2^- decomposition in solutions at $\text{pH}<8$. They explained that solution freezing induced a gradual increase of ionic strength by increasing proton mobility, which results in pH decrease. In addition, they suggested that pH solution at an initial pH of 8 and above may not drop low enough during freezing–thawing to acidify the solution and induced NO_2^- decomposition. Furthermore, the pH decline induced by the freeze–thaw cycle is analogous to samples preservation by acidification, it increases the oxidation rate of nitrite to nitrate. Takenaka et al. (1992) demonstrated that the substances freezing alters considerably their composition rather than preserve them. Their results indicated that the nitrite oxidation rate is accelerated by freezing and that the reaction occurred only in acidic solution (pH 4.0). In an experiment on inorganic-N transformation

Fig. 3 Comparison of nitrite concentrations between fresh and aged samples stored at 4°C for a period up to 7 days



during different storage conditions of soil leachates, Clough et al. (2001) concluded that transformations of inorganic-N are dominated by chemical reactions involving NO_2^- , particularly at pH 4.5 and -20°C . Secondly, Goyal and Hafez (1995) stipulated that solutions at pH 5 and above required both freezing–thawing and PO_4 ions in order that NO_2^- decomposition proceeds. However, our results indicate that when standard solutions at pH around 5.0 are frozen and then thawed, important and significant changes in NO_2^- concentrations are observed even if no PO_4

contamination is detected (results not shown). Furthermore, freeze–thaw samples collected in the agricultural watershed are in the range of natural water pH (6.3 to 8.3) with possible presence of PO_4 ions demonstrated a significant but less important systematic deficit of the initial NO_2^- concentrations. Thirdly, Goyal and Hafez (1995) also found that increased losses of NO_2^- are expected when the initial concentrations decreased. Our results demonstrated that freezing water samples induces a significant decrease of the initial NO_2^- concentration. However, no pattern of decrease is observed in the variation of nitrite concentrations in freezing water samples. Since we consider that freezing water samples is not an adequate preservation method when NO_2^- analysis is required, the impact of the freezing duration has no significance. In the third experiment, the long-term storage of samples at 4°C generates variability in NO_2^- concentrations which induced a slope deviation from unity. However, the effect of long term storage on samples is of a magnitude small enough to be neglected compared to the effect of freezing on samples. No significant differences are noticeable between fresh and aged samples up to 7 days. In comparison to water samples, Clough et al. (2001) have recommended the storage of leachates or 2 M KCl extracts from soils at 4°C without acidification in order to minimise N transformation of NO_2^- and NH_4^+ . In contrast to our results, Proctor (1962) has demonstrated that more variability on NO_2^- concentrations is induced on unfrozen sea-water samples whereas NO_2^- concentrations of frozen samples are

Table 3 Parameters indicating relevant statistical information between nitrite concentrations in fresh samples and ageing samples stored at 4°C for a period of 1- to 7-days

Days of ageing	<i>N</i>	<i>r</i>	<i>m</i>	<i>b</i>	<i>U^a</i>
1	30	0.991	0.942 ^b (0.025)	0.001 (0.001)	NS
2	30	0.985	0.917 ^b (0.030)	0.001 (0.001)	NS
3	30	0.983	0.903 ^b (0.032)	0.001 (0.001)	NS
4	30	0.986	0.891 ^b (0.029)	0.002 (0.001)	NS
5	30	0.977	0.896 ^b (0.037)	0.001 (0.001)	NS
6	30	0.979	0.911 ^b (0.035)	0.001 (0.001)	NS
7	29	0.972	0.885 ^b (0.041)	0.001 (0.001)	NS

Numbers in parentheses are standard error.

N Number of sampled analysed, *r* Pearson correlation coefficient, *m* slope of linear regression equation, *b* *y*-intercept of linear regression equation, *NS* not significantly different to NO_2^- initial concentrations

**p*=0.05

^aMann–Whitney test, significantly different than the NO_2^- initial concentration

^bSignificantly different from the theoretical slope of 1 (*p*<0.05)

more stable. We recommend preserving freshwater samples for NO_2^- analysis at for 4°C for a period of 48 h. Even if accuracy on NO_2^- measurements will be decreased, it is preferable to analyse refrigerated samples instead of frozen.

5 Conclusion

This study focuses on finding an adequate preservation technique to maintain the initial nitrite concentrations during samples storage within a required level of accuracy. The study have three main objectives related to nitrite preservation in freshwater samples: investigating problems related to laboratory manipulations during samples filtration, evaluating the impact of freezing as a preservation technique for nitrite and, assessing the changes of nitrite concentration in water samples through a week of storage at 4°C . Results demonstrate that no adsorption or dilution of water samples occurred during filtration. However, we still recommend using filtration only when sample turbidity is visible at the eye in order to avoid any potential contamination with laboratory material during manipulations. Furthermore, our results indicate that freezing is not an adequate preservation method for nitrite analysis from surface water samples because freezing induces a significant, unsystematic decrease in the measured nitrite concentration. Consequently, we recommend preserving freshwater samples for NO_2^- analysis at 4°C for a period of 48 h instead of freezing them. In view of these conclusions, we suggest that great care should be taken in interpreting nitrite concentrations in freshwater quality monitoring studies because low nitrite concentrations reported in the literature could originate from inadequate samples preservation technique.

Acknowledgment We gratefully thank Agriculture and Agri-Food Canada and the Institut National de la Recherche Scientifique en Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE). A particular thanks to Nadia Goussard for her efficient laboratory analyses of water samples and to Professor André Saint-Hilaire for his valuable advices and suggestions on the statistical techniques

References

American Public Health Association (APHA) (1995). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (9th ed.). Washington, D.C.: American Public Health Association.

- Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ). (2007). Détermination des nitrates et des nitrites dans l'eau; méthode colorimétrique automatisée avec le sulfate d'hydrazine et le N.E.D., MA. 303-NO3 1.0, Rév.3. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec.
- Chapman, P., & Mostert, S. A. (1990). Does freezing of nutrient samples cause analytical errors? *South African Journal of Marine Science*, 9, 239–247.
- Charpiot, R. (1969). Technique de conservation des échantillons d'eau de mer pour le dosage du phosphore, nitrite, nitrate, silice et bore. *Cahiers Océanographiques*, 21, 773–793.
- Clough, T. J., Stevens, R. J., Laughlin, R. J., Sherlock, R. R., & Cameron, K. C. (2001). Transformations of inorganic-N in soil leachate under differing storage conditions. *Soil Biology & Biochemistry*, 33, 1473–1480.
- Dore, J. E., Houlihan, T., Hebel, D. V., Tien, G., Tupas, L., & Karl, D. M. (1996). Freezing as a method of sample preservation for the analysis of dissolved inorganic nutrients in seawater. *Marine Chemistry*, 53, 173–185.
- Goyal, S. S., & Hafez, A. A. R. (1995). Phosphate-catalyzed decomposition of nitrite to nitrate during freezing and thawing of solutions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 43, 2641–2645.
- Hébert, S., & Légaré, S. (2000). Suivi de la qualité des rivières et petits cours d'eau, Québec, Direction du suivi de l'état de l'environnement, ministère de l'Environnement, envirodoq no ENV-2001-0141, rapport no QE-123,24p. et 3 annexes.
- Keeney, D. R., & Nelson, D. W. (1982). Nitrogen-inorganic forms. In A. L. Page (Ed.) *Methods of soils analysis* (2nd ed.) Part 2. Agron. Monogr. 9 (pp. 643–648). Madison: ASA and SSSA.
- Ministère de l'Environnement et de la Faune (MEF). (1998). Critères de qualité de l'eau de surface au Québec. Québec: Direction des écosystèmes aquatiques, ministère de l'Environnement et de la Faune.
- Nollet, L. M. L. (2000). *Handbook of water analysis*. New York: Marcel Dekker.
- North Carolina Division of Water Quality (NCDWQ). (2005). *Collection and preservation of water quality samples*. Retrieved May 2007, from <http://h2o.enr.state.nc.us/lab/qa/collpreswq.pdf>.
- Proctor, R. R. (1962). Stabilization of the nitrite content of sea water by freezing. *Limnology and Oceanography*, 7, 479–480.
- Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52, 591–611.
- Takenaka, N., Ueda, A., & Maeda, Y. (1992). Acceleration of the rate of nitrite oxidation by freezing in aqueous solution. *Nature*, 358, 736–738.
- U. S. Environmental Protection Agency (EPA). (1990). Recommended Protocols for Measuring Conventional Water Quality Variables and Metals in Fresh Water of the Puget Sound Region. Prepared by Tetra Tech, Inc., Bellevue, WA for the U.S. EPA Region X Office if Puget Sound, Seattle WA.
- van Bochove, E., Dechmi, F., Nolin, M. C., Chantigny, M. H., Lemieux, C., Thériault, G., et al. (2005). Evaluation of beneficial agricultural management practices on water quality at edge-of-field and micro-watershed scales in Southern Quebec, Canada. Paper presented at the International Water Association, 9th Diffuse Pollution Conference, Johannesburg, South Africa.

9. Article 2 : Présence de fortes concentrations en nitrite dans les cours d'eau d'un bassin versant agricole d'une région tempérée

Résumé

Cette étude est la première à faire état de la présence et de la variabilité des concentrations en nitrite dans l'eau de surface d'un bassin versant agricole situé dans la province de Québec, Canada. Un suivi des concentrations en nitrite a été effectué dans un bassin versant de 2.4 km² pendant deux ans. Des échantillons d'eau ont été collectés d'avril à novembre à l'exutoire de bassin versant ainsi qu'à six stations d'échantillonnage de trois bras de cours d'eau durant trois régimes hydrologiques (l'étiage d'été, la recharge automnale et la fonte printanière). Les résultats démontrent clairement que les niveaux de nitrite à l'exutoire ne sont pas représentatifs de la variabilité en nitrite et des relations avec les nitrates et l'ammonium observées à l'intérieur du micro-bassin versant. L'eau de surface collectée dans les secteurs en culture présente de fortes concentrations en nitrite pendant l'étiage d'été, dépassant régulièrement les critères de qualité de l'eau pour la protection de la vie aquatique, avec des moyennes en nitrite variant de 0.022 à 0.107 mg N L⁻¹ et une valeur maximale atteignant 0.156 mg N L⁻¹. De plus, les deux cours d'eau situés en milieu agricole ont montré des différences significatives pour les concentrations de nitrite ainsi que pour d'autres paramètres de qualité de l'eau. L'importance de l'apport en eau souterraine aux cours d'eau dans le micro-bassin versant du Bras d'Henri ainsi que la qualité de cette eau sont susceptibles de générer des différences dans les sources de nitrite ainsi que dans différents paramètres de qualité. De nouvelles études seraient essentielles afin de mieux définir les sources et les processus liés aux pointes de nitrite observées dans les cours d'eau.

Mots clés : nitrite; présence; eau douce; cours d'eau; agriculture; bassin versant



Occurrence of High In-Stream Nitrite Levels in a Temperate Region Agricultural Watershed

Julie Corriveau · Eric van Bochove ·
Martine M. Savard · Daniel Cluis · Daniel Paradis

Received: 6 October 2008 / Accepted: 21 May 2009
© Springer Science + Business Media B.V. 2009

Abstract This study is the first to report nitrite occurrence and variability in surface water across an agricultural watershed in the province of Quebec, Canada. Nitrite (NO_2^-) concentrations were monitored across a 2.4 km² watershed during 2 years. Water samples were collected at the outlet from April to November and in three contrasted stream branches

J. Corriveau · D. Cluis
Institut national de la recherche scientifique—Eau,
Terre et Environnement,
490 de la Couronne,
Québec G1K 9A9, Canada

J. Corriveau
e-mail: julie.corriveau@ete.inrs.ca

D. Cluis
e-mail: cluis@ete.inrs.ca

E. van Bochove (✉)
Agriculture and Agri-Food Canada,
Soils and Crops Research and Development Centre,
2560 Hochelaga Boulevard,
Québec G1V 2J3, Canada
e-mail: eric.vanbochove@agr.gc.ca

M. M. Savard · D. Paradis
Geological Survey of Canada—Natural Resources Canada,
490 de la Couronne,
Québec G1K 9A9, Canada

M. M. Savard
e-mail: msavard@nrcan-rncan.gc.ca

D. Paradis
e-mail: dparadis@nrcan-rncan.gc.ca

(six stations) during three hydrological regimes (summer low water levels, fall recharge, and snowmelt). Our study clearly demonstrates that NO_2^- levels observed at the outlet are not representative of NO_2^- variability across the micro-watershed. Surface water collected in cropped areas presents high NO_2^- concentrations during summer low water levels, often exceeding guidelines for aquatic life, with NO_2^- means ranging from 0.022 to 0.107 mg N L⁻¹ and maximum value reaching 0.156 mg N L⁻¹. Furthermore, the two stream branches in cropped area have demonstrated significant differences in NO_2^- concentrations and other water quality parameters. The importance of groundwater discharge to streams in the micro-watershed Bras d'Henri may potentially generate different in-stream sources of NO_2^- and water quality parameters. However, further studies are essential to determine sources and processes related to in-stream NO_2^- peaks.

Keywords Nitrite · Occurrence · Freshwater · Stream · Agriculture · Watershed

1 Introduction

Natural nitrite (NO_2^-) concentrations can accumulate in waters polluted by industrial, agricultural, and urban effluents (Eddy and Williams 1987). Nitrite may reach toxic levels in aquatic ecosystems and have

severe consequences on the health of human and freshwater communities. The main toxic effect of nitrite on human health is methemoglobinemia. Ingested nitrite and/or reduced nitrite from ingested nitrate (NO_3^-) is absorbed into the bloodstream and oxidize hemoglobin to form methemoglobin, inhibiting oxygen transport in blood throughout the body and resulting in cyanosis. Infants less than 6 months constitute the most sensitive population to methemoglobinemia (Health and Welfare Canada, HWC 1996). Furthermore, nitrite and nitrate have been classified as possibly carcinogenic to humans since epidemiological studies have demonstrated an association between the presence of these ions in drinking water and stomach cancer (Health and Welfare Canada, HWC 1996). Several studies have also reported the ecotoxicological significance of nitrite on aquatic organisms such as fishes and invertebrates (Eddy and Williams 1987; Kelso et al. 1999; Kroupova et al. 2005). Depending on environmental conditions and freshwater organism, the presence of nitrite in water may rapidly induce methemoglobinemia. The main critical effects reported in response to methemoglobin formation are: a growth reduction, a decrease in hatchability, a development of malformations, and mortality. Despite all these, direct nitrite measurements are typically neglected in water quality surveys, NO_2^- being frequently compounded with NO_3^- measurements. Total nitrite concentrations are rarely measured separately because nitrite is believed to be non-significant in the environment as it is readily oxidized into nitrate (Hébert and Légaré 2000). In fact, nitrite rarely accumulates in terrestrial and aquatic ecosystems where there is no anthropogenic input (Paul and Clarke 1989). Typical nitrite values reported in unpolluted streams range between 0.001 and 0.010 mg N L^{-1} (van Bennekom et al. 1978; Eddy and Williams 1987). In agricultural systems, the spread of organic and mineral fertilizers may induce significant nutrient excess in soils, which can reach streams and rivers due to transfer processes such as leaching, surface runoff, and soil water erosion. To our knowledge, no water quality study in agricultural environment in Québec or Canada has ever reported a problem related to nitrite occurrence and variability in freshwater. In contrast to Canada, United States, and Australia, many European studies have reported over the last 25 years a critical situation for several polluted rivers (Meybeck 1982; Smith and Steward 1989; Burns et al. 1995; Smith et al. 1995; Kelso et al. 1997; Smith et al. 1997; von der Wiesche

and Wetzel 1998). Meybeck (1982) has reported nitrite values from 0.008 to 0.017 mg N L^{-1} in the Rhone and Rhine rivers (Switzerland). In 1991, Burns et al. (1995) observed nitrite concentrations ranging from 0.004 to 0.172 mg N L^{-1} in the six major rivers of the Lough Neagh catchment (North Ireland). In the same catchment, Smith et al. (1995) reported mean concentrations varying between 0.034 and 0.064 mg N L^{-1} during 1991 and 1992. Von der Wiesche and Wetzel (1998) observed nitrite concentrations ranging between 0.150 and 0.250 mg N L^{-1} in Lahn River (Germany). Turtura and De Pascale (1991) monitored water quality during 3 years in the Bologna region (Italy) and reported nitrite concentrations ranging from 0.01 to 0.4, 0.03 to 2.05, and 0.01 to 1.3 mg N L^{-1} for three rivers used for irrigation.

To assess the presence of NO_2^- in surface water, particularly in agricultural environment where this ion may be highly concentrated, accurate analytical determination is essential. The determination of total nitrate (NO_3^-) plus NO_2^- concentrations may hide the occurrence and significant fluctuations in NO_2^- which is toxic even at very low concentrations. Indeed, NO_3^- concentrations are generally 100 times larger than nitrite. Smith and Steward (1989) have determined that surface water with NO_3^- concentrations below the maximum acceptable limit may carry NO_2^- levels exceeding the recommended values. The Canadian and Quebec governments have established nitrite guidelines for drinking water to 1.0 mg N L^{-1} for nitrite and to 10 mg N L^{-1} for nitrate plus nitrite (Health and Welfare Canada, HWC 1996; Ministère de l'environnement et de la faune (MEF) (1998); Canadian Council of Ministers of the Environment 2007). Additionally, nitrite guidelines for the protection of aquatic life are at 0.02 and 0.06 mg N L^{-1} for chronic and acute exposition, respectively (MEF 1998). Furthermore, Corriveau et al. (2008) have highlighted that considerable confusion persists on the adequate water sample preservation technique for sole total nitrite determination. They suggested that great care should be taken in interpreting ancient nitrite concentrations in freshwater quality monitoring studies because low nitrite concentrations reported in the literature could originate from inadequate samples preservation technique. Nowadays, there is a worldwide growing consciousness about nitrite occurrence in freshwater ecosystems. In that perspective, this project is pioneering with the characterization of

nitrite level variations in surface water across a first-order agricultural watershed in the province of Québec, Canada. Additionally, in-stream abiotic parameters that may explain nitrite variability are investigated here.

2 Materials and Methods

2.1 Region of Study

This study is part of a Canada-wide program called Watershed Evaluation of Beneficial agricultural management practices on water quality (WEBs) project. The study is carried out in a micro-watershed of 2.4 km² embedded in the Bras d'Henri River watershed located in the agro-climatic region of Chaudière–Appalaches, in southern Québec (Fig. 1). The Bras d'Henri River is a 158 km² watershed characterized by an intensive crop production and high livestock density (van Bochove et al. 2005). The watershed has 41% of its area used for crop production, which are mainly forage, corn grain, and soybean. The animal production is also one of the highest livestock densities in Quebec, with a predominant animal production of hogs (59%) and cattle (23%). Consequently, problematic water quality issues related to phosphorus, nitrogen, herbicides, and enteric pathogens are pervasive in the area.

The Bras d'Henri watershed is located in the Quebec Appalachians. This micro-watershed is characterized by a rolling relief ranging from 150 to 170 m above sea level. The surficial geologic materials were deposited during the presence of the Champlain Sea and consist of thin (<10 m) littoral sediments (sand, sandy silt, coarse sand, and gravel) overlying clayey glacial diamictons (Gadd 1974). These diamictons generally reach a thickness of 1.0 to 1.5 m, but they are not present throughout the micro-watershed. The surficial sediments overlay the regional bedrock that consists of fine-grained schist and mudstones (Slivitzky and St-Julien 1987). The surficial soils in the micro-watershed are predominantly sandy to coarse loams that are well drained. Based on the groundwater chemistry results, geological soundings, and ground penetrating radar (GPR) surveys (Fig. 2), the aquifer system of the micro-watershed can be separated into a surficial and a regional aquifer. The surficial aquifer is unconfined

and is composed of the littoral sediments of variable thickness and permeability, while the regional aquifer is a bedrock aquifer. Generally, the surficial and the regional aquifers are separated by a layer of impermeable diamictons. This layer restricts the mixing of groundwater from both systems, as suggested by the groundwater chemistry from piezometers and domestic wells. In the micro-watershed, groundwater is discharged to streams all year long and it is the dominant source of water for streams during summer low water levels. Monitored wells have indicated that the water table response to a precipitation event is about 2 days. Moreover, water table fluctuations demonstrate typical seasonal response to regional climate, characterized by four hydrological regimes: a major spring recharge, a summer base low water level, autumn moderate recharge events, and a winter decline. The dominant sandy to coarse loamy soil profile and its high soil drainage capacity combined to N excess from the intense use of mineral and organic fertilizers by agriculture activities generate a NO₃⁻ leaching towards the aquifer which will eventually reach the streams.

2.2 Study Sites

In this project, water quality was monitored from 2004 to 2007 at the micro-watershed outlet. Van Bochove et al. (2005) have reported water quality results for the 2004 ice-free period (April to December). The present study exploits the water quality monitoring accomplished in 2005 and 2006 at the micro-watershed outlet. From early April to December during both years, an hourly water sample was collected at the outlet using an autosampler (Teledyne ISCO 6712 Portable Sampler) equipped with glass bottles. Bottle contents were replaced at 2-day intervals, and combined two-by-two to give 4-day samples which were analyzed for determinations of NO₂⁻, ammonium (NH₄⁺), and NO₃⁻. The stream discharge (*Q*) at the micro-watershed outlet was measured, as described in van Bochove et al. (2005). A stage–discharge curve was established to describe the experimental relation between the water depth and stream discharge at the micro-watershed outlet. The water depth was measured at the outlet, while stream discharge was calculated from stream velocities (SonTek Flow Tracker Handheld ADV) measured at various flow depths in a designate control

section close to the outlet. For further investigation on NO_2^- variability across the micro-watershed, three contrasted tributary streams were selected. For each stream, two sampling stations were located at approximately 100 m from each other (Fig. 1). Branch 15 (stations S1 and S2) and branch 14 (stations S3 and S4) are the two major streams of the micro-watershed characterized by agricultural activities such as corn crop, forage, and soybean. Stream branch 15 drains an area of approximately 68.1 ha, whereas branch 14 drains an area of about 126.2 ha. The third stream, branch 55 (stations S5 and S6), is located at the forested head portion of the micro-watershed and belongs to the drainage area of branch 14. The drained area covers

approximately 12.4 ha. In addition to the three streams, three different hydrologic regimes were determined to monitor nitrite and other water quality parameters at each sampling stations: summer low water levels, fall recharge, and snowmelt. During each hydrologic regime from 2005 to 2007, water sampling was performed every 2 days over designated time periods listed in Table 1. Dissolved oxygen (DO) and water temperature (T) were measured at each stream-sampling station using a numerical oxymeter thermometer. A 1-L water sample was collected in high density polyethylene (HDPE) bottle at each station, stored at 4°C in a cooler and transported within 2 h to the laboratory for analyses. The pH and electric conductivity (EC) were

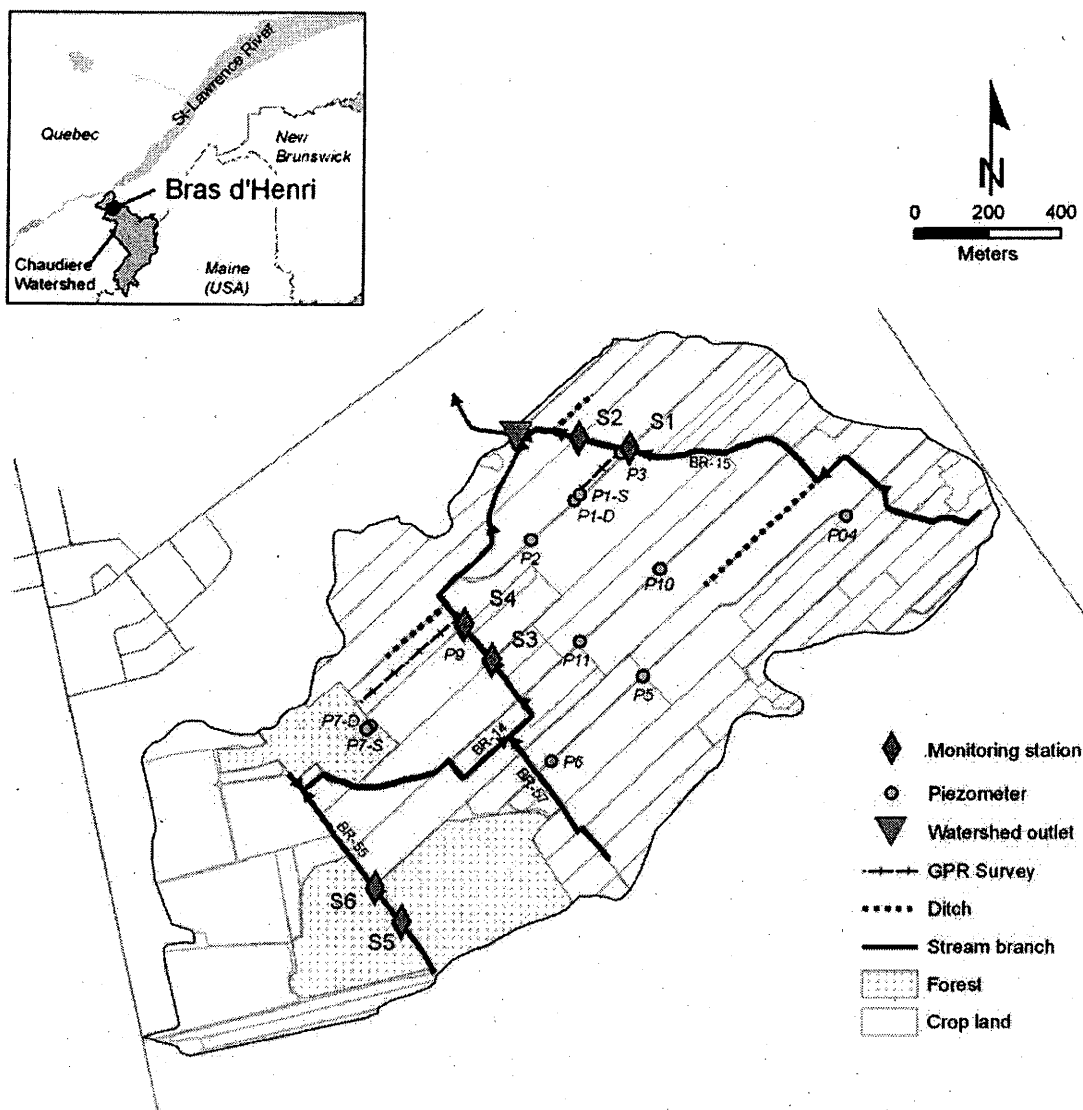
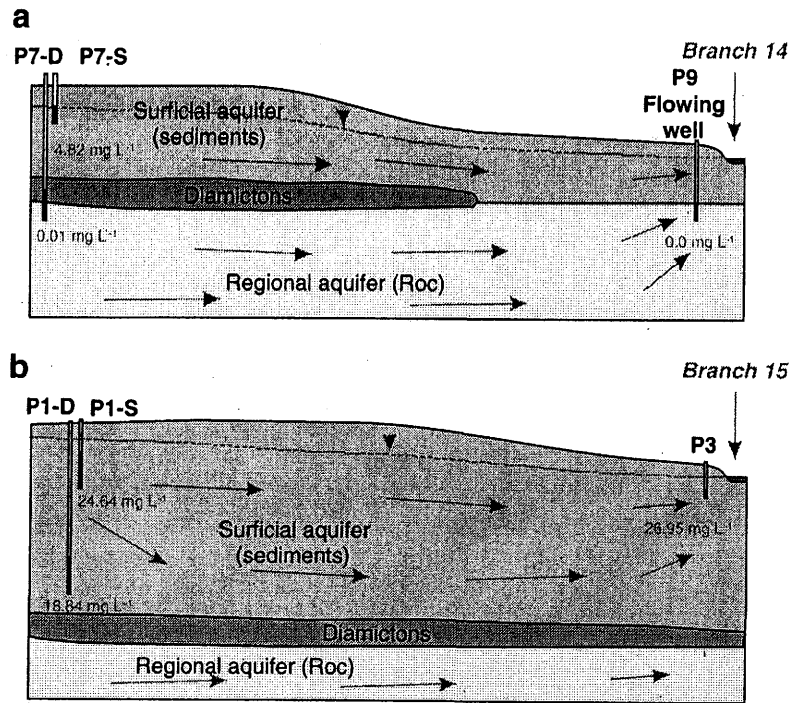


Fig. 1 Location of stream branches and sampling stations in the agricultural micro-watershed Bras d'Henri

Fig. 2 Hydrostratigraphy of the aquifer system in the Bras d'Henri micro-watershed. **a** The absence of the impermeable diamictons near branch 14 allows regional groundwater to emerge into the stream. **b** The presence of the impermeable diamictons near branch 15 prevents mixing of surficial and regional groundwater. Numbers in red are for NO₃ concentrations in mg L⁻¹



measured in the laboratory. Concentrations of NO₂⁻, NH₄⁺, NO₃⁻, total nitrogen (TN), total phosphorus (TP), and sulfate (SO₄²⁻) were analyzed.

Groundwater samples were also collected from 12 piezometers (P1-D, P7-D, P1-S, P7-S, P2, P3, P4, P5, P6, P9, P10, and P11) located across the micro-watershed according to land uses, management practices, and hydrogeological conditions (Fig. 1). The piezometers were built with 5.0-cm-diameter PVC, screened and sand packed at the water table to sample groundwater from the water table throughout the year. Only P1-D, P7-D, and P9 piezometers were screened below the water table. Two domestic wells were also sampled. These wells were open borehole in the bedrock with a metal casing isolating the sediments

Table 1 Calendar for sampling surface water in the Bras d'Henri micro-watershed during three hydrologic regimes, during 2005–2007

Hydrologic regime	2005–2006		2006–2007	
	Period	n ^a	Period	n
Summer low water	2–22 Aug.	10	8–22 Aug.	8
Fall recharge	23 Oct.–2 Nov.	6	3–11 Nov.	5
Snowmelt	5–8 Apr.	6	24 Apr.–1 May	4

^a Number of sampling days

from the rock. This kind of well installation allows the assessment of the groundwater quality of the regional aquifer. Samples from piezometers were collected in a 2 L HDPE bottle, after a 10 L purge with an inertial pump. Groundwater samples were stored at 4°C in a cooler and transported within 2 h to the laboratory for analyses. Groundwater samples from the 12 piezometers were collected during mid-February, early April, early May, mid-August, late September, and early December. Additionally, piezometers P3 and P9 located respectively near sampling stations S1 (branch 15) and S4 (branch 14) were sampled during three hydrologic regimes, at the same frequency than surface water collection across the micro-watershed (Table 1). Physical and chemical analyses previously enumerated for surface water were also performed on groundwater samples.

2.3 Analytical Methods

Modified protocols for water analysis by colorimetric methods from Keeney and Nelson (1982) and from Nkonge and Ballance (1982) were used to determine NO₂⁻ and NH₄⁺, respectively. Water samples preservation for NO₂⁻ analyses followed Corriveau et al. (2008) recommendations, and NH₄⁺ analyses were completed within 48 h. Analyses of NO₃⁻ and SO₄²⁻

were accomplished by ion chromatography (Dionex ICS-2000) within 48 h. Samples for TN and TP analyses were preserved frozen and determined at the end of the sampling period by automatic colorimetry using 4500-org persulfate method (American Public Health Association 1995) and by manual spectrophotometer using Official method (Association of Analytical Communities 1995), respectively.

2.4 Statistical Analyses

Nitrite probabilities to exceed guideline value for chronic and acute exposition were calculated as demonstrated in Scherrer (1984). All groundwater and surface water quality parameters were tested for normality using the Shapiro–Wilk test ($W < 0.70$, $p < 0.05$). Parameters not normally distributed were transformed using Box–Cox transformation, with corresponding λ value to maximize variable normality. Analysis of variance (ANOVA) was used to determine significant differences ($p < 0.05$) between monthly NO_2^- means at the outlet and across the micro-watershed. Additionally, ANOVA was also used to determine significant difference ($p < 0.05$) in water quality parameters means across the micro-watershed and in groundwater quality parameters means of two piezometers between hydrologic regimes. Post hoc Duncan's multiple range test was also used to attest which means are significantly different ($p < 0.05$). Variance inflation factors (VIF) were calculated to evaluate the multi-collinearity between water quality parameters and independent variables. Variables with a VIF value greater than 10 indicated potential multi-collinearity and were eliminated. Therefore, correlation matrix was calculated to evaluate significant ($p < 0.05$) relation between NO_2^- and other water quality parameters. Statistical analyses were performed with STATISTICA 6.0 (StatSoft, OK, USA). Statistical analyses on groundwater for the variable pH, NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ , and SO_4^{2-} were performed independently on the 2006 and 2007 data using the MIXED procedure of SAS.

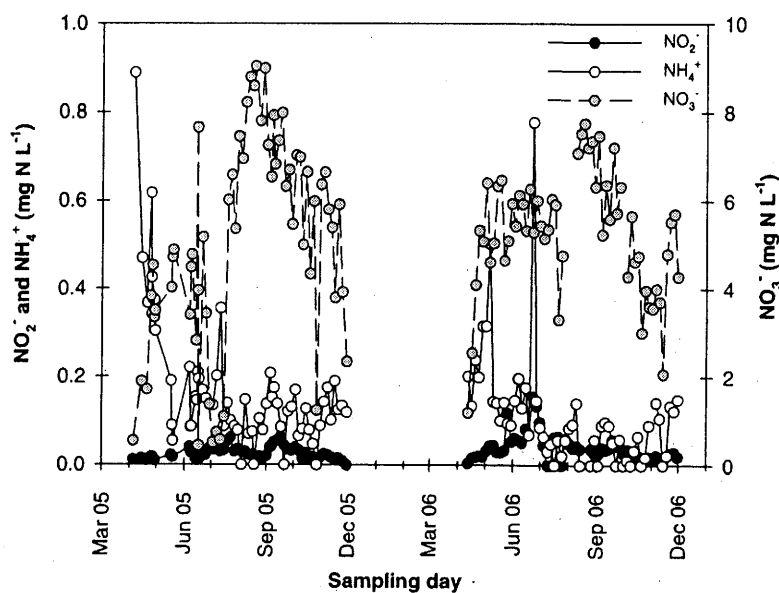
3 Results

Figure 3 shows variations of NO_2^- , NH_4^+ , and NO_3^- concentrations in surface water at the micro-watershed outlet during 2005 and 2006 ice-free periods. Statistical

analyses of these results indicate significant correlations between NO_2^- and NO_3^- concentrations and NO_3^- and NH_4^+ concentrations, with an r coefficient of 0.24 and -0.30 , respectively. Additional statistics performed for stream discharge (Q) and the three N forms reveal negative relationships with NO_2^- and NO_3^- , with a correlation coefficient of -0.27 and -0.56 , respectively.

Table 2 shows monthly NO_2^- means, standard deviations, maxima at the micro-watershed outlet, and the probability that NO_2^- concentrations exceed guidelines for aquatic life. The statistical analysis underlines two groups: (1) results for May, June, July, and September or for the growing season which corresponds to the summer low water hydrologic regime, and (2) results for April, October, and November or the fall recharge and the snowmelt hydrologic regime periods. Group 1 is characterized by high NO_2^- means, ranging between 0.037 and 0.050 mg N L⁻¹. In contrast, group 2 is characterized by low NO_2^- means ranging from 0.012 to 0.022 mg N L⁻¹. Noteworthy, August does not match with either group, having its NO_2^- mean at 0.030 mg N L⁻¹. The maximum NO_2^- value was observed during June, with 0.155 mg N L⁻¹. The probability that NO_2^- concentration exceeds guideline criteria for chronic exposition varied between 0.76 and 1.00, from June to September. For acute exposition, the probability to exceed guideline is the highest in June and July, 0.29 and 0.25, respectively. Furthermore, NO_2^- means, standard deviations, and maxima for the six stations and outlet by hydrologic regime are reported in Table 3. The probabilities to exceed guideline values for aquatic life exposed chronically and acutely to NO_2^- are also shown in Table 3. Generally, all stations have their highest mean and maximum NO_2^- value during summer, combined with the highest probability to exceed the guideline values for chronic NO_2^- exposition. The overall highest NO_2^- summer means are observed in the branch 15 at stations S1 and S2, with 0.107 mg N L⁻¹ and 0.076 mg N L⁻¹, respectively. Moreover, stations S1 and S2 are also characterized by the highest NO_2^- means during fall recharge and snowmelt, with values ranging between 0.029 and 0.046 mg N L⁻¹. These stations demonstrate the highest probability to exceed the guideline for acute NO_2^- exposition, ranging from 0.89 to 0.94 during the summer low water levels. In addition, stations S1 and S2 have demonstrated the

Fig. 3 Variation through time in N form concentrations at the micro-watershed outlet during 2005 and 2006 ice-free periods



highest probabilities to exceed guideline for chronic NO_2^- exposure during the three hydrologic regimes, from 0.94 to 1.00. Statistical analyses reveal no significant difference for NO_2^- means between fall recharge and snowmelt at all stations (results not shown). Again, stations S3, S5, and S6 show no significant difference between NO_2^- means during the three hydrologic regimes.

Table 2 Relevant statistical information on nitrite concentration measured at the outlet of the twin micro-watershed from April to November, in 2005 and 2006

Month	NO_2^- (mg N L ⁻¹)			p (0.02) ^a	p (0.06) ^b
	Mean*	Std	Max		
April	0.012 a	0.005	0.025	0.12	0.00
May	0.037 b	0.027	0.118	0.69	0.08
June	0.050 b	0.041	0.156	0.76	0.29
July	0.041 b	0.027	0.097	0.81	0.25
August	0.030 a,b	0.011	0.049	0.77	0.00
September	0.042 b	0.012	0.064	1.00	0.06
October	0.022 a	0.011	0.039	0.50	0.00
November	0.017 a	0.008	0.029	0.40	0.00

Std standard deviation, Max maximum concentration

*Different letters indicate significant ($p < 0.05$) difference between means

^aProbability that NO_2^- concentration is superior to nitrite guideline for chronic exposure (> 0.02 mg N L⁻¹)

^bProbability that NO_2^- concentration is superior to nitrite guideline for acute exposure (> 0.06 mg N L⁻¹)

Statistical analyses of mean quality parameters measured in surface water reveal significant differences between sampling stations (Table 4). Stations S5 and S6 (branch55) are characterized by lowest concentrations in TN (1.69 and 1.95 mg N L⁻¹), nitrate (0.71 and 0.88 mg N L⁻¹), and sulfate (11.76 and 13.79 mg SO₄²⁻ L⁻¹), as well as high ammonium (0.233 and 0.266 mg N L⁻¹) mean concentrations. Water quality parameters for stations S3–S4 and S1–S2 in cropped areas (stream branches 14 and 15, respectively) present significantly different trends (Table 4). Stations S1 and S2 present high nitrate (4.46 and 5.67 mg N L⁻¹), low ammonium (0.092 and 0.076 mg N L⁻¹), and high sulfate (37.12 and 37.05 mg SO₄²⁻ L⁻¹) mean concentrations, whereas stations S3 and S4 are characterized by lower nitrate (1.67 and 2.07 mg N L⁻¹), higher ammonium (0.267 and 0.333 mg N L⁻¹), and lower sulfate (17.61 and 20.00 mg SO₄²⁻ L⁻¹) mean concentrations. In addition, Table 5 reveals significant correlations between NO_2^- concentrations and other water quality parameters for the six sampling stations across the micro-watershed. NO_2^- concentrations in surface water are positively correlated to pH, and negatively to DO at the four stations situated in cropped areas. Additionally, a positive correlation between NO_2^- and SO₄²⁻ concentrations exists in three out of the four stations in cropped areas. These observations discriminate sampling stations situated in the cropped area from those in the forested area. This is mainly induced by the fact that NO_2^- concentrations at sampling stations S5 and S6 are very low and near the detection limit

Table 3 Relevant statistical information on nitrite concentration measured at the outlet and at the stream stations within the micro-watershed for three hydrologic regimes

Hydrologic regime	Station	NO ₂ ⁻ (mg N L ⁻¹)			<i>p</i> (0.02) ^a	<i>p</i> (0.06) ^b	
		Mean	Std	Max			
Summer low water	Branch 15						
	S1	0.107 a*	0.030	0.151	1.00	0.94	
	S2	0.076 b	0.019	0.096	0.94	0.89	
	Branch 14						
	S3	0.022 c	0.012	0.040	0.50	0.00	
	S4	0.045 d	0.020	0.083	0.83	0.22	
	Branch 55						
	S5	0.005 e	0.003	0.012	0.00	0.00	
	S6	0.012 c,e	0.008	0.031	0.13	0.00	
	Outlet	0.031 c,d	0.009	0.044	0.82	0.00	
	Fall recharge	Branch 14					
		S1	0.031 a	0.007	0.041	1.00	0.00
S2		0.029 a,b	0.007	0.040	1.00	0.00	
Branch 14							
S3		0.012 c	0.003	0.015	0.00	0.00	
S4		0.014 b,c	0.004	0.020	0.00	0.00	
Branch 55							
S5		0.002 c	0.000	0.002	0.00	0.00	
S6		0.003 c	0.001	0.004	0.00	0.00	
Outlet		0.015 c	0.007	0.025	0.22	0.00	
Snowmelt		Branch 15					
		S1	0.046 a	0.035	0.115	1.00	0.17
	S2	0.034 a,b	0.011	0.055	1.00	0.00	
	Branch 14						
	S3	0.015 b,c	0.013	0.034	0.30	0.00	
	S4	0.018 b,c	0.013	0.036	0.50	0.00	
	Branch 55						
	S5	0.009 c	0.005	0.015	0.00	0.00	
	S6	0.010 c	0.005	0.016	0.00	0.00	
	Outlet	0.014 a,b,c	0.008	0.025	0.17	0.00	

Std standard deviation, *Max* maximum concentration

*Duncan multiple range test, different letters indicate significant ($p < 0.05$) difference between means

^aProbability that NO₂⁻ concentration is superior to nitrite guideline for chronic exposure (>0.02 mg N L⁻¹)

^bProbability that NO₂⁻ concentration is superior to nitrite guideline for acute exposure (>0.06 mg N L⁻¹)

during the three hydrologic regimes. Consequently, both stations in the forested area only have few significant correlations between nitrite and other water quality parameters. Noteworthy, Table 5 demonstrates that NH₄⁺ and NO₂⁻ concentrations are positively correlated for surface water collected in stations S3 and S4 (branch 14), whereas a significant negative correlation was found for surface water of stations S2 (branch 15). In addition, station S2 shows a positive correlation between NO₂⁻ and NO₃⁻ concentrations while correlations are negative at stations S3 and S4 (branch 14), indicating contrasted in-stream water chemistry between the two stream branches. These results are corroborated by the hydro-

geological context based on a survey conducted in 12 piezometers during 2006 and 2007 (Table 6). Statistical analyses reveal two spatially distinct groups, from which all mean water quality parameters are significantly different. During 2006 and 2007, groundwater from piezometers (P6, P7-D, and P9) located in the micro-watershed western central area, near stream branch 14, is characterized by very low nitrate (0.01 and 0.02 mg N L⁻¹), relatively high ammonium (0.112 and 0.071 mg N L⁻¹), and low sulfate (17.47 and 13.83 mg SO₄²⁻ L⁻¹) mean concentrations (Fig. 1). All other piezometers (P1-D, P1-S, P2, P3, P4, P5, P7-S, P10, and P11), including those located near stream

Table 4 Mean water quality parameters measured at the stream stations across the micro-watershed from 2005 to 2007

Station	pH	NO ₂ ⁻ -N	NO ₃ ⁻ -N	NH ₄ ⁺ -N	TN	SO ₄ ²⁻
mg L ⁻¹						
Branch 15						
S1	7.61 a*	0.081 a	4.46 a	0.092 a	5.64 a	37.12 a
S2	7.66 a	0.057 b	5.67 b	0.076 a	6.32 b	37.05 a
Branch 14						
S3	7.20 b	0.018 c	1.66 c	0.267 b	2.45 c	20.01 b
S4	7.13 b	0.032 d	2.07 c	0.333 b	2.90 c	17.61 b
Branch 55						
S5	7.90 c	0.006 e	0.88 d	0.233 b	1.95 c,d	13.79 b,c
S6	7.91 c	0.009 c,e	0.71 d	0.266 b	1.69 d	11.76 c

*Duncan multiple range test, different letters indicate significant difference between means ($p < 0.05$)

branch 15, are characterized by groundwater with very high nitrate (9.31 and 7.80 mg N L⁻¹), low ammonium (0.074 and 0.048 mg N L⁻¹), and high sulfate (26.57 and 25.50 mg SO₄²⁻ L⁻¹) mean concentrations (Fig. 1). These results indicate that groundwater discharge may generate different water chemistry in the nearby effluent branches. Table 7 reveals significant difference in mean quality parameters measured in groundwater during the three hydrologic regimes. The piezometer located near branch 15 (close to S1) show no difference in TN (from 25.83 to 27.65 mg N L⁻¹) mean concentration between the three hydrologic regimes. However, significant differences are observed between the three hydrologic regimes for DO (from 8.15 to 12.75 mg L⁻¹) and SO₄²⁻ (from 17.75 to 23.48 mg L⁻¹) mean concentrations. In contrast,

the piezometer located near stream branch 14 shows no difference between hydrologic regimes for NO₃⁻ (from 0 to 0.01 mg N L⁻¹) and NH₄⁺ (from 0.047 to 0.097 mg N L⁻¹) mean concentrations. Only SO₄²⁻ (from 11.86 to 13.53 mg L⁻¹) mean concentrations demonstrate significant difference between hydrologic regimes. Noteworthy, year-long DO mean concentrations in groundwater from this piezometer are lower than 2.00 mg L⁻¹.

4 Discussion

Hourly monitoring of inorganic N form concentrations at the micro-watershed outlet during selected periods and during 2 years (2005–2006) has revealed

Table 5 Significant correlation coefficients of main parameters with NO₂⁻ concentrations (dependant variable) listed for the stations within the micro-watershed

Station	Water quality parameters*					
	pH	DO	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	TP	SO ₄ ²⁻
Branch 15						
S1	0.72	-0.68			0.37**	0.74
S2	0.63	-0.69	0.45**	-0.41***		0.70
Branch 14						
S3	0.39	-0.42	-0.42**	0.27***		0.40
S4	0.48	-0.68	-0.31**	0.76***		
Branch 55						
S5	-0.42			0.35***		
S6			-0.31**		0.40**	

DO dissolved oxygen, TP total phosphorus

* $p < 0.05$, ** $p < 0.10$, *** $p < 0.20$

Table 6 Mean water quality parameters measured in 12 piezometers in the micro-watershed during 2006 and 2007

Station	pH	NO ₂ ⁻ -N	NO ₃ ⁻ -N	NH ₄ ⁺ -N	SO ₄ ²⁻
mg L ⁻¹					
2006					
Branch 15 ^a	7.69 a*	0.016 a	9.31 a	0.074 a	26.57 a
Branch 14 ^b	8.20 b	0.002 b	0.01 b	0.112 b	17.47 b
2007					
Branch 15 ^a	7.44 a	0.032 a	7.80 a	0.048 a	25.50 a
Branch 14 ^b	7.98 b	0.000 b	0.02 b	0.071 b	13.83 b

Stream branches 14 and 15 include three and nine piezometers, respectively

*Duncan multiple range test, same letters indicate that means are not significantly different ($p < 0.05$)

^aPiezometers P1-D, P1-S, P7-S, P2, P3, P4, P5, P6, P10, and P11

^bPiezometers P6, P7-D, and P9

Table 7 Mean groundwater quality parameters measured in two piezometers located near stream branches 14 and 15 in the micro-watershed for three hydrologic regimes during 2006 and 2007

Piezometer	pH	DO	NO ₃ ⁻ -N	NH ₄ ⁺ -N ^a	TN ^b	SO ₄ ²⁻
		mg L ⁻¹				
P3 (Br. 15)						
Summer low water	7.70 a*	8.15 a	27.38 a	0.103a	25.83 a	22.34 a
Fall recharge	7.99 a	7.08 b	25.07 b	0.108 a	27.65 a	17.75 b
Snowmelt	7.70 b	12.75 c	28.93 a,b	1.029 b	26.42 a	23.48 c
P9 (Br. 14)						
Summer low water	7.88 a,b	1.05 a,b	0.01 a	0.097 a	0.12 a	13.53 a
Fall recharge	7.01 a	0.84 b	0.00 a	0.062 a	0.11 a	12.05 b
Snowmelt	8.30 b	1.88 a	0.00 a	0.047 a	0.01 b	11.86 c

*Duncan multiple range test, different letters indicate significant difference between means ($p < 0.05$)

^a Box-Cox transformation for normality ($\lambda = 0.3$)

^b Box-Cox transformation for normality ($\lambda = 0.1$)

new insights on the dynamics of NO₂⁻, NO₃⁻, and NH₄⁺. Two major trends were observed for 4-day averages: a positive correlation between NO₂⁻ and NO₃⁻ concentrations and a negative correlation between NO₃⁻ and NH₄⁺ concentrations. Nitrate and nitrite are two water-soluble compounds easily leached through agricultural soils, and indeed the continuous water input by several agricultural drains combined with a small but significant continuous groundwater discharge to the river may lead to NO₂⁻ and NO₃⁻ increases in surface water. Furthermore, the negative correlation between NO₂⁻ and NO₃⁻ concentrations with river discharge (Q) are typical for those two ions. Indeed, in-stream NO₂⁻ and NO₃⁻ concentrations are diluted by water inputs from rainfall through surface and lateral runoffs. The negative relationship between NH₄⁺ and NO₃⁻ concentrations corresponds to theoretical transport models of N forms to rivers. In contrast to NO₃⁻ leaching through the aquifer and tile drains, NH₄⁺ is easily adsorbed by soil clay mineral and is preferably transported to streams by surface runoff along with eroded soil particles. Consequently, NH₄⁺ concentrations tend to increase during a storm, whereas NO₃⁻ is diluted.

This study demonstrates that nitrite may peak or accumulate in surface water at the micro-watershed outlet. Table 2 illustrates three important points: (1) there is a high probability that year-long nitrite concentrations exceed the guideline value for chronic exposition; (2) this probability is higher during summer; and (3) the probability that nitrite concen-

trations exceed the guideline value for acute exposition is also high during June and July. Additionally, this study reveals that nitrite concentrations may peak or accumulate to reach important levels across the micro-watershed. Three important points to note (Table 3): (1) there is a high probability that nitrite concentrations found in surface water flowing through cropped areas exceed guideline values for chronic exposition during the three hydrologic regimes; (2) this probability is higher during summer (low water levels); and (3) the probability that nitrite concentrations exceed the guideline value for acute exposition is high at stations S1 and S2 (branch 15) for summer low water levels. Other studies have reported high NO₂⁻ concentrations in rivers during summer months, which are also exceeding guidelines criteria.

In Northern Ireland, Smith et al. (1995) have observed nitrite minimum values during winter and maximum values in summer, from 0 to 0.019 mg N L⁻¹ and 0.090 to 0.235 mg N L⁻¹, respectively. High NO₂⁻ concentrations were reported in Lahn River, ranging from 0.150 to 0.250 µg N L⁻¹ and characterized with frequent summer values reaching 0.400 µg N L⁻¹ (Gießen 1994). In the Lahn river, von der Wiese and Wetzel (1998) observed a similar range of NO₂⁻ concentrations, with maxima from May until July and minima from September to October. The Lahn maximum concentrations are greater than peak concentrations measured in the Bras d'Henri watershed. Despite the fact that NO₂⁻ concentrations in the Bras d'Henri were not measured in

winter, they should not reach high values. Although potential of nitrite dilution from water runoff is reduced during winter, studies have demonstrated that freezing–thawing cycles greatly increased NO_2^- oxidation to NO_3^- in solutions at $\text{pH} < 8$ (Goyal and Hafez 1995; Corriveau et al. 2008).

The present study also clearly demonstrates that NO_2^- concentrations observed at the outlet integrate both stream branches, and do not represent NO_2^- variability across the micro-watershed. Indeed, a strong variability in NO_2^- concentrations is observed within the 2.4 km^2 micro-watershed. Furthermore, stations S5 and S6 (branch 55) in the forested area are characterized by very low NO_2^- and high NH_4^+ concentrations with no significant correlation. This finding contrasts with that of Smith et al. (1995) who have reported strong positive correlations between NO_2^- and NH_4^+ concentrations in surface water from eight subcatchments of the Lough Neagh watershed. The low N input to forest floor compared to cropped areas influences the N balance between immobilization and mineralization in the short term. Indeed, intensive application of N fertilizers favors mineralization and increases risks of NO_3^- loss whereas low soil-N content favors net immobilization of mineralized N (van Bochove et al. 1996). Moreover, surface water analyses revealed significant differences in water quality parameters between branches 14 and 15. In fact, NO_2^- correlations with NO_3^- and NH_4^+ revealed opposite trends for these two branches, which potentially indicate different NO_2^- sources and dynamics between NO_2^- and the two other N forms in stream water. The different sources of groundwater (surficial and regional aquifer) to streams in the micro-watershed may partially cause the observed difference between the two branches (Fig. 2). Groundwater sampling in the Bras d'Henri watershed indicate two distinct piezometer groups with contrasting water chemistry. The group including P1-D, P1-S, P7-S, P2, P3, P4, P5, P10, and P11 appears to be representative of the groundwater chemistry in the surficial aquifer while all the other piezometers (P6, P7-D, and P9) appears to be representative of regional conditions. Surficial groundwater is generally characterized by the presence of NO_3^- and a high DO while no NO_3^- was actually found in the regional groundwater where anoxic condition prevails. Indeed, the solutes carried by groundwater to the river likely affect the various

microbiological processes occurring in the sediments which in turn affect the peak NO_2^- concentrations and/or accumulation in surface water. This phenomenon has previously been documented by Smith et al. (1995) who demonstrated that 60% of the NO_2^- loads originated from N transformation at the sediment–water interface of the rivers system of Lough Neagh catchment in North Ireland. Another hypothesis to explain the differences between branches 14 and 15 lies in the relative dilution of groundwater originating from surficial and regional aquifers before reaching streams. As suggested by groundwater chemistry results, geological soundings, and GPR surveys near branches 14 and 15, the presence of the impermeable diamictons was likely to affect stream chemistry. For example, artesian conditions at P9 near the river bed of branch 14, the absence of the diamictons on the GPR profile, and the thinness of the surficial aquifer all suggest that the stream is mostly fed by the regional aquifer (Fig. 2a). In contrast, the thickness of the surficial aquifer and the presence of the diamictons both suggest that the stream at branch 15 is mostly connected to the surficial aquifer (Fig. 2b). We therefore propose that the contrasted groundwater chemistry resulting from the heterogeneous hydro-geologic conditions in the different portion of the Bras d'Henri basin has large impacts on surface water chemistry, which may potentially result in contrasted NO_2^- concentrations.

5 Conclusion

This study is the first to report nitrite level variations in surface water across a first-order agricultural watershed in Quebec, Canada. Nitrite reached important levels across the watershed, specifically in cropped area. Probabilities that in-stream NO_2^- concentrations exceed the chronic and acute guidelines for aquatic life are higher during summer months and low water periods. Nitrite concentrations observed at the outlet integrate sources from both stream branches, and do not show NO_2^- variability and peaks concentrations among different sites of the micro-watershed. The three stream branches have exhibited significant differences in NO_2^- concentrations and general water quality parameters. There are significant differences between stations in water quality parameters, including NO_2^- concentrations,

particularly for those located on branches 14 and 15. Correlations between NO_2^- and NO_3^- , and NO_2^- and NH_4^+ revealed opposite relationships for stations from different stream branches, which potentially indicates different N dynamics and/or various NO_2^- sources. The importance of groundwater discharge to streams in the Bras d'Henri micro-watershed, the heterogeneity of the aquifer system, and the various sources of groundwater may have a significant impact on surface water quality, and potentially cause NO_2^- inputs from different sources (field, streams, and sediment). However, the study suggests that more research is needed to determine sources and processes responsible for NO_2^- peaks in streams since nitrite occurrence and variability in freshwater ecosystems have become a growing concern.

Acknowledgements Grateful thanks are addressed to Nadia Goussard, Geneviève Begin, Jean-Thomas Denault, and Georges Thériault for their efficient contributions and suggestions while performing laboratory analyses of water samples, field work and data analysis. Particular thanks are addressed to the Institut national de la recherche scientifique en Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE) for its support and contribution to the study. This project has been funded by the Watershed Evaluation of BMPs (WEBs) and Information Gaps in Water Quality and Nutrients (GAPS#315) programs of AAFC, and by the Groundwater Program of Natural Resources Canada (management by A. Rivera, project of S. Chalifoux).

References

- American Public Health Association. (1995). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (9th ed.). Washington D.C.: American Public Health Association.
- Association of Analytical Communities. (1995). *Official methods of analysis of AOAC International* (16th ed.). Arlington Virginia: Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs.
- Burns, L. C., Stevens, R. J., Smith, R. V., & Cooper, J. E. (1995). The occurrence and possible sources of nitrite in a grazed, fertilized, grassland soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 27, 47–59. doi:10.1016/0038-0717(94)00130-S.
- Canadian Council of Ministers of the Environment. (2007). Source to tap: Nitrate and Nitrite. <http://www.ccme.ca/sourcetotap/nitrates.html> Accessed 27 September 2007.
- Corriveau, J., van Bochove, E., Bégin, G., & Cluis, D. (2008). Effect of preservation techniques on the determination of nitrite in freshwater samples. *Water, Air, and Soil Pollution*, 193, 335–342. doi:10.1007/s11270-008-9694-z.
- Eddy, F. B., & Williams, E. M. (1987). Nitrite and freshwater fish. *Chemistry and Ecology*, 3, 1–38. doi:10.1080/02757548708070832.
- Gadd, N. R. (1974). *Surficial geology—Saint-Sylvestre. Map 1407A, scale 1:50000*. Ottawa: Geological Survey of Canada.
- Goyal, S. S., & Hafez, A. A. R. (1995). Phosphate-catalyzed decomposition of nitrite to nitrate during freezing and thawing of solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2641–2645. doi:10.1021/jf00058a016.
- Health and Welfare Canada (HWC). (1996). *Guidelines for Canadian drinking water quality* (6th ed.). Ottawa: Canada Communications Group Publishing.
- Hébert, S., & Légaré, S. (2000). Suivi de la qualité des rivières et petits cours d'eau, Québec, Direction du suivi de l'état de l'environnement, ministère de l'Environnement, envirodoq no ENV-2001-0141, rapport no QE-123,24p. et 3 annexes.
- Keeney, D. R., & Nelson, D. W. (1982). Nitrogen-inorganic forms. In A. L. Page (Ed.), *Methods of soils analysis. 2nd ed. Part 2. Agron. Monogr. 9* (pp. 643–648). Madison: ASA and SSSA.
- Kelso, B. H. L., Glass, D. M., & Smith, R. V. (1999). Toxicity of nitrite to freshwater invertebrates. In W. S. Wilson, D. M. Ball & R. H. Hinton (Eds.), *Managing risks of nitrates to humans and the environment* (pp. 175–188). Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Kelso, B. H. L., Smith, R. V., Laughlin, R. J., & Lennox, S. D. (1997). Dissimilatory nitrate reduction in anaerobic sediments leading to river nitrite accumulation. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 4679–4685.
- Kroupova, H., MaChova, J., & Svobodova, Z. (2005). Nitrite influence on fish: a review. *Veterinary Medicine—Czech*, 50, 461–471.
- Meybeck, M. (1982). Carbon, nitrogen, and phosphorus transport by world rivers. *American Journal of Science*, 282, 401–450.
- Ministère de l'environnement et de la faune (MEF). (1998). Critères de qualité de l'eau de surface au Québec. Direction des écosystèmes aquatiques. Québec: Ministère de l'environnement et de la faune du Québec.
- Nkonge, C., & Ballance, G. M. (1982). A sensitive colorimetric procedure for nitrogen determination in micro-Kjeldahl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30, 416–420. doi:10.1021/jf00111a002.
- Paul, E. A., & Clarke, F. E. (1989). *Soil microbiology and biochemistry* (2nd ed.). San Diego: Academic.
- Gießen, R. (ed). (1994). *Modellhafte Erarbeitung eines ökologisch begründeten Sanierungskonzeptes für kleine Fließgewässer am Beispiel der Lahn (Modelling the objectives of an ecological reconstruction draft for small running waters exemplified by the River Lahn)*. Endbericht: BMFT-Projekt.
- Scherrer, B. (1984). *Biostatistique*. Montréal: Gaëtan Morin Éditeur.
- Slivitzky, A., & St-Julien, P. (1987). Compilation géologique de la région de l'Estrie-Beauce (MM 85-04). Québec: Ministère de l'Énergie et des Ressources.
- Smith, R. V., & Steward, D. A. (1989). A regression model of nitrate leaching in Northern Ireland. *Soil Use and Management*, 5, 71–76. doi:10.1111/j.1475-2743.1989.tb00764.x.
- Smith, R. V., Foy, R. H., Lennox, S. D., Jordan, C., Burns, J. E., Cooper, J. E., et al. (1995). Occurrence of nitrite in the Lough Neagh river system. *Journal of Environmental Quality*, 24, 952–959.
- Smith, R. V., Burns, L. C., Doyle, R. M., Lennox, S. D., Kelso, R. H., Foy, R. H., et al. (1997). Free ammonia

- inhibition of nitrification in river sediments leading to nitrite accumulation. *Journal of Environmental Quality*, 26, 1049–1055.
- Turtura, G. C., & De Pascale, A. (1991). Qualità delle acque irrigue di Malalbergo (Bologna). *Annals of Microbiology*, 41, 81–100.
- van Bennekom, A. J., Berger, G. W., Helder, W., & De Vries, R. T. P. (1978). Nutrient distribution in the Zaire estuary and river plume. *Netherlands Journal of Sea Research*, 12, 296–323. doi:10.1016/0077-7579(78)90033-9.
- van Bochove, E., Jones, H. G., Pelletier, F., & Prévost, D. (1996). Emission of N₂O from agricultural soil under snow cover: a significant part of N budget. *Hydrological Processes*, 10, 1545–1549. doi:10.1002/(SICI)1099-1085(199611)10:11<1545::AID-HYP492>3.0.CO;2-0.
- van Bochove, E., Dechmi, Nolin, M.C., Chantigny, M.H., Lemieux, C., Thériault, G. & Corriveau, J. (2005). Evaluation of beneficial agricultural management practices on water quality at edge-of-field and micro-watershed scales in Southern Quebec, Canada. Proceedings of the International Water Association, 9th Diffuse Pollution Conference, August 16–19, Johannesburg, South Africa. 8p.
- von der Wiesche, M., & Wetzel, A. (1998). Temporal and spatial dynamics of nitrite accumulation in the River Lahn. *Water Research*, 32, 1635–1661. doi:10.1016/S0043-1354(97)00376-X.



10. Article 3 : Sources de nitrite dans les cours d'eau d'un bassin versant en culture intensive

Résumé

Les sources des fortes concentrations de nitrite ont été étudiées dans deux cours d'eau situés dans un bassin versant en culture intensive au Québec, Canada. La rétention de l'azote a été déterminée afin d'évaluer la dynamique du transport de N le long de deux branches de cours d'eau pendant l'étiage d'été et la recharge automnale. Dans la première branche, le nitrite et l'ammonium ont été retenus pendant les deux régimes hydrologiques, alors que la seconde branche de cours d'eau a démontré des exportations de NO_2^- et NH_4^+ . L'étude a également démontré que l'eau de résurgence est une source de NO_2^- , qui varie d'un cours d'eau à l'autre à l'intérieur du bassin versant et avec le régime hydrologique. Les résultats ont mis en évidence une importante activité réductrice dans l'eau de résurgence provenant de la dénitrification ou la DNRA, et conduisant à la consommation du NO_3^- . Les différences de concentrations de NO_3^- dans l'eau souterraine alimentant chaque branche sont susceptibles d'influencer les concentrations de NH_4^+ et de NO_2^- dans l'eau résurgence, pouvant potentiellement aboutir en d'importantes quantités de NO_2^- dans les cours d'eau.

Mots clés: *nitrite; accumulation; eau de résurgence; apport ; rétention*



SOURCES OF NITRITE IN STREAMS OF AN INTENSIVELY CROPPED WATERSHED

J. Corriveau³, E. van Bochove^{4*}, and D. Cluis¹

³Institut national de la recherche scientifique – Eau, terre et environnement, 490 de la Couronne, Québec, Québec, Canada, G1K 9A9, Tel. : (418) 654-2524, Fax : (418) 654-2600.

⁴Agriculture and Agri-food Canada, Soils and Crops Research and Development Centre, 2560 Hochelaga blvd, Québec, Québec, Canada, G1V 2J3, Tel. : (418) 657-7980, Fax : (418) 648-2402.
E-mail : eric.vanbochove@agr.gc.ca

ABSTRACT

The sources of high in-stream nitrite concentrations were investigated in two major streams located in an intensively cropped watershed in Québec, Canada. Nitrogen retention was determined to evaluate the dynamics in relation to N transport along both stream branches during summer low water and fall recharge regimes. In the first stream branch, nitrite and NH_4^+ showed removal patterns during summer low water and fall recharge, whereas in the second branch NO_2^- and NH_4^+ exports occurred during both hydrologic regimes. The study also demonstrated that seepage water is a source of NO_2^- in stream, which varies within the watershed stream branches and with the hydrologic regime. Results highlighted an important reductive activity into seepage water from either denitrification or DNRA, leading to NO_3^- consumption. Differences in groundwater NO_3^- concentrations feeding each stream branch may have significantly influenced NH_4^+ and NO_2^- concentrations found in seepage water, which potentially resulted in quantitatively important NO_2^- formation.

Key words: nitrite, nitrite accumulation, N retention, seepage water, N input,

INTRODUCTION

High in-stream nitrite level can occur in surface water polluted by agricultural effluents rich in nutrients. Several studies have reported the ecotoxicological significance of nitrite on aquatic organisms such as fishes and invertebrates (Lewis and Morris, 1986, Kelso *et al.*, 1999, Kroupova *et al.*, 2005). Total nitrite plus nitrate ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) rather than total nitrite (NO_2^-) concentrations are usually determined in water quality monitoring programs since nitrite is widely assumed to be transient in the environment as it is readily oxidized into nitrate (Paul and Clarke, 1989, Hébert and Légaré, 2000). Consequently, the importance of total nitrite fluctuations is hidden by nitrate concentrations that are generally 100 times greater. European studies have reported problems related to nitrite occurrence and accumulation in polluted rivers over the last 25 years (Meybeck, 1982, Smith and Steward, 1989, Burns *et al.*, 1995, Smith *et al.*, 1995, Kelso *et al.*, 1997, Smith *et al.*, 1997, von der Wiese and Wetzel, 1998). In agricultural environments, high nitrite levels in streams and rivers appear to be linked to large inputs of nitrogen substrates from fertilizers (Kelso *et al.*, 1997). Smith *et al.* (1995) estimated that land drainage contributed for about 40% of the total NO_2^- loads carried in Northern Ireland Rivers. They suggested that the remaining 60% of NO_2^- originated from nitrogen transformations at the sediment-water interface of aquatic ecosystems. Nitrification, denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) are the three main processes intimately interlinked, particularly at the sediment-water interface in river systems, and are responsible for NO_2^- production (MacFarlane and Herbert, 1984, Kuenen and Robertson, 1988). Oxidative (nitrification) and reductive (denitrification and/or DNRA) processes may occur simultaneously in adjacent zones and/or in anoxic micro-sites within oxic sediments. Streams and rivers are dynamic ecosystems with hydrological connexions to terrestrial systems and streambed sediment environments that support nitrogen transformation, transport and export along the river network. Headwater streams have

the capacity to retain and transform important amount of inorganic N since their large surface-volume ratios favour rapid N uptake and processing (Peterson *et al.*, 2001). The capacity of streams to effectively retain and transform nitrogen inputs becomes ineffective across any stream size at high N loads, inducing an increase of N exports in river networks (Peterson *et al.*, 2001, Mulholland *et al.*, 2008).

Corriveau *et al.* (2009) were the first to report nitrite occurrence and variability in surface waters of an agricultural watershed in Quebec, Canada. The study was prompted by observations of high NO_2^- concentrations during summer months and summer low water period. Furthermore, water samples collected in the watershed cropped area showed NO_2^- values often exceeding guidelines for the protection of aquatic life (Corriveau *et al.*, 2009). Results also indicated that NO_2^- levels observed at the outlet were not representative of NO_2^- variability across the Bras d'Henri micro-watershed. Correlations between NO_2^- and NO_3^- , and NO_2^- and NH_4^+ (ammonium) demonstrated opposite relationships between sampling stations from different stream branches in the same watershed, which may indicate different N dynamics and/or various NO_2^- sources. Consequently, the identification of sources responsible for NO_2^- peaks in streams is required since nitrite occurrence and variability in freshwater ecosystems supporting intensive agriculture have become a growing concern. In examining nitrogen transport in small-size streams located in agricultural areas, we determined that quantitative information on the different N-forms was needed to understand nitrogen dynamics in these nutrient enriched aquatic ecosystems since the ultimate objective was to develop agricultural practices mitigating nutrient losses to surface water. From that perspective, this project evaluated nitrite inputs and outputs in two stream sections from an agricultural micro-watershed during summer low water and fall recharge periods to determine sources of high nitrite levels in surface water. Additionally, loads of different N-forms were also

determined to investigate N dynamics in relation to N transport in agricultural aquatic ecosystems.

MATERIALS AND METHODS

Study site

As part of a Canadian program called Watershed Evaluation of Beneficial agricultural management practices on water quality (WEBs), this study was carried out in a 2.4 km² micro-watershed embedded in the Bras d'Henri River watershed located in the agro-climatic region of Chaudière-Appalaches, in southern Québec. The Bras d'Henri River is a 158 km² watershed characterized by an intensive crop production and high livestock density (van Bochove *et al.*, 2005). The micro-watershed is characterized by well drained soils, with a predominant sandy loam to coarse loam texture. Based on the groundwater chemistry analysis, geological soundings and ground penetrating radar (GPR) surveys, the aquifer system of the micro-watershed can be separated into a surficial and a regional aquifer (Corriveau *et al.*, 2009). The surficial aquifer is unconfined and is composed of the littoral sediments of variable thickness and permeability, while the regional aquifer is a bedrock aquifer.

In this project, the two major stream branches located in the cropped area and characterized by similar agricultural activities (crop, forage and soybean) were selected in the Bras d'Henri micro-watershed (Fig.1). These stream branches dug in the 70's to improve land drainage are characterized by very steep slopes, unstable banks and a water surface well below the bank level, even during floods events. In the first stream, branch 15, two sampling stations (S1 and S2) were located at approximately 145 m from each other, respectively upstream and downstream (Fig. 1). Similarly, in the second stream, branch 14, sampling stations S3 and S4 were located 120 m apart

(Fig. 1). Water samples were collected at each station in 1L high density polyethylene (HDPE) bottles, stored at 4°C in a cooler and transported within two hours to the laboratory for different analysis of N-forms. In 2006, sampling was performed every two days during two different hydrologic regimes: summer low water (August 8 to 22, 2006) and fall recharge (November 3 to 11, 2006). Additionally, stream discharge was measured at the micro-watershed outlet from early April to December 2006, by establishing a stage discharge curve (van Bochove *et al.*, 2005). The loads for the different N-forms at each sampling station (S1 to S4) were calculated using stream discharge estimated with the drainage-area ratio method. The error propagation from stream discharge calculation was estimated below 5% at all sampling stations, using Taylor's series expansion.

Between the upstream and the downstream sampling stations of each stream branch, water samples from all tile drain outlets were collected with a 1L HDPE bottle, stored at 4°C in a cooler and transported within two hours to the laboratory for different analyses of N-forms. One tile drain was located in stream branch 15 and, five drained into branch 14 (Fig. 1). The tile drain discharge was not measured in 2006. However, the mean tile drain flow value of each drain per hydrologic regime measured in 2005 was used to approximate flow for corresponding regimes in 2006. Comparison of weekly mean effective precipitation, calculated according to relation by Kopecky (2004), showed no significant difference in wet days between 2005 and 2006 summer low water and fall recharge (data not shown). Seepage water from the streambed was collected using a seepage-meter. The seepage-meter consisted in a stainless steel container (diameter = 0.25m and height = 0.18m) open at the bottom end and inserted vertically into the streambed enclosing an area of 0.05m² (Fig. 2). A flexible 2L bottle (Platypus, Seattle, WA) was attached to a tube protruding from a rubber plug inserted into a hole in the top of the seepage-meter. In each

stream section delimited by the upstream and the downstream stations, two and four seepage-meters were respectively installed during summer low water and fall recharge sampling periods (Fig. 1). Two days prior to sampling, an air evacuated flexible bottle was installed on each device to collect water naturally seeping from the sediments. Bottles were retrieved and replaced by new ones after 48hrs, stored at 4°C in a cooler and transported within two hours to the laboratory. In the laboratory, each sample volume was noted. For dissolved N₂O analyses, a first homogenous subsample was extracted from the bottle with a double needle and inserted into vacuumed borosilicate amber vial with a septum plug. Dissolved N₂O concentration from vials were analysed with the headspace technique (Kampbell *et al.*, 1989). Each vial contained 100 µL of HCl 6M to inhibit bacteria activity and preserve sample integrity. A 10 mL volume of N₂ gas was introduced with a syringe into the amber vial to generate a headspace. A double needle was simultaneously introduced through the septum for the outflow of 10 mL of water sample from the creation of the headspace volume. All vials were then put into a rotary shaker water bath at 25 °C for one hour to create equilibrium between gaseous and aqueous phases. Afterwards, 7.5 mL of gas from the headspace volume was extracted from the amber vial with a valve syringe and introduced into a vacuumed vial for gas chromatograph analysis. Dissolved N₂O concentrations were calculated using Henry's first law of gas diffusion, as described by Corriveau (2005). A second homogenous subsample of 250 mL was also taken for N-forms analyses.

Seepage flow estimate

A simplified hydrological budget approach was used to evaluate seepage flow. Runoff and erosion were considered negligible since no major precipitation event occurred during sampling periods, summer low water and fall recharge. Seepage flow (Q_{seepage}) ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) was estimated using Eq.1:

$$Q_{seepage} = Q_{output} - (Q_{input} + \sum Q_{Tiledrains}) \quad \text{Eq.1}$$

Q_{input} ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) and Q_{output} ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) are respectively upstream and downstream discharges for the stream section and $Q_{Tiledrains}$ ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) is the tile drain discharge.

Analytical methods

For all samples, pH was measured in the laboratory. Water samples were preserved in the refrigerator at 4°C in the dark for a maximum period of 48hrs (Corriveau *et al.*, 2008). Nitrite analysis was performed using the modified Keeney and Nelson (1982) method. Ammonium analyses were completed using the modified protocol from Nkonge and Ballance (1982) method. Nitrate analyses were accomplished by ionic chromatography (Dionex ICS-2000) within 48 hours. Sub-samples for total nitrogen (TN) analysis were preserved frozen and determined at the end of each sampling period by automated colorimetry using the 4500-org persulfate method (APHA, 1995).

Simplified mass balance approach

A simplified mass balance approach was used to evaluate retention of the different N-forms (NO_2^- , NH_4^+ , NO_3^- , and TN) in the two major stream branches of the Bras d'Henri micro-watershed. For this purpose, stream sections were delimited in each branch by the upstream (N input) and the downstream (N output) sampling stations (Fig. 3). Nitrogen retention normalized to the stream section area ($\text{mg N s}^{-1} \text{m}^{-2}$) was calculated for each N-form and both branches, using Equation 2.

$$N_{retention} = \frac{N_{tot_input} - N_{output}}{A_{sect}} \quad \text{Eq.2}$$

N_{tot_inputs} (mg N s^{-1}) is the sum of the upstream, seepage and tile drain nitrogen loads in the stream sections. N_{output} (mg N s^{-1}) is the downstream nitrogen load for the stream section and A_{sect} (m^2) is the area of the stream section. To improve understanding, a positive value for $N_{retention}$ indicates that nitrogen was retained in the stream by assimilation, transformation, adsorption or sedimentation whereas negative value indicates N export from stream section to downstream ecosystems. Tile drains and seepage waters were identified as two important hydrological components responsible for N inputs (NO_2^- , NH_4^+ , NO_3^- , and TN) into streams. Run-off component was negligible in this study since no major precipitation event occurred during summer low water and fall recharge sampling periods. The daily effective precipitation calculated according to Kopecky (2004) suggests that the risk of possible surface runoff during precipitation events in both 2006 sampling periods was very low, especially during summer low water (data not shown). The relative contribution (RC) of N from seepage ($N_{Seepage}$) water and tile drain ($N_{Tiledrains}$) water relative to the total N inputs (mg m^{-3}) (N_{Tot_Inputs}) was estimated for each stream section, using Eq.3.

$$\text{RC}(\%) = \left[\frac{N_{Seepage \text{ or } Tile \text{ drains}}}{N_{Tot_Inputs}} \right] \cdot 100 \quad \text{Eq.3}$$

Sediment analyses

Twelve sediment cores (5 cm in diameter by 15 cm deep) were collected by pushing Plexiglas tubes into sediments of each stream branch section areas. The top and bottom ends of each tube

were closed with plastic lids, when the tube was pulled out from the sediments with the intact core. In the laboratory, both stoppers were removed, and a plunger was inserted into the top end to push the core downward into a plate. Sediments were wet sieved at 2 mm and left at room temperature to dry during 48 h. A subsample of each sediment section was analysed for its content in nitrogen (N) and (C) using dry combustion (Truspec CN 2000, LECO Corporation, St-Joseph, MI).

Gas analyses

The N₂O gas samples from the soil atmosphere and the degassed water samples were analysed with the method described by van Bochove *et al.* (2001). N₂O concentrations were determined by the use of a gas chromatographer (HP 5890 Series II, Wilmington, Delaware) equipped with a liquid autosampler (A200SE, CTC Analytics, Zwingen, Switzerland). The operating setup and conditions for N₂O analysis were a Porapak Q precolumn (0.91 m by 0.32- cm diameter) coupled to an analytical column (1.83 m by 0.32 – cm diameter) used with Ar/CH₄ as a carrier gas (5/95 m³ m⁻³, 45 mL min⁻¹) and an electron capture detector (ECD) (250°C).

Statistical analyses

Stream discharges, concentrations, loads and retention for the different N forms, dissolved N₂O concentrations and C/N ratios were tested for normality using the Shapiro-Wilk test ($W > 0.70$, $p < 0.05$). Analysis of variance (ANOVA) was used to determine significant differences ($p < 0.05$). Post-hoc Duncan's multiple range test was used to assess which means are significantly different ($p < 0.05$). Statistical analyses were performed with STATISTICA 6.0 (StatSoft, OK).

RESULTS

N loads

Water discharge was approximately six times greater during fall recharge than summer base flow (Table 1). Significant ($p < 0.05$) differences were observed in stream discharge between upstream and downstream stations located in the same branch during fall recharge whereas none was observed during the summer low water period. With higher discharge measurements at the watershed outlet during fall, the drainage-area ratio method used to estimate discharge at each sampling station induced a greater discharge difference between upstream and downstream stations. Nitrite concentrations measured in surface water in branches 15 and 14 were higher during summer low water period (Fig. 4a) than during fall recharge (Fig. 4b). For all sampling stations, statistical analysis confirmed that the mean NO_2^- concentration was significantly ($p < 0.05$) higher during summer low water than fall recharge. Also, the mean NO_2^- concentration was significantly ($p < 0.05$) higher in branch 15 than in branch 14 for both hydrologic regimes. Furthermore, significant ($p < 0.05$) differences were observed between upstream and downstream mean NO_2^- concentrations for branches 15 and 14 during summer, whereas no significant difference was observed during fall recharge for both streams. Table 2 shows loads at upstream and downstream sampling stations for the different N-forms in branches 15 and 14 during summer low water and fall recharge in 2006. Higher NO_2^- , NH_4^+ , NO_3^- and TN mean loads were observed during fall recharge than summer low water, with the exception of NH_4^+ loads at the downstream station (output) in stream branch 15. Significant ($p < 0.10$) differences for NO_2^- and NH_4^+ between upstream and downstream mean loads were observed in branch 14 during both regimes. In branch 15, significant ($p < 0.10$) differences were only observed between upstream and downstream for NO_3^- and TN loads during fall recharge.

Loads from the two nitrogen sources, seepage and tile drains waters, were evaluated for their respective contribution to each stream section. Table 3 shows seepage and tile drain means for discharge, concentration, load and relative contribution of all N-forms in both streams during summer low water and fall recharge of 2006. Mean nitrite concentrations in seepage water were similar in branches 15 and 14, with slightly higher concentrations during summer, 18.8 and 19.7 mg N m⁻³ respectively for each branch. Tile drains mean NO₂⁻ concentrations showed higher values during both hydrologic regimes in branch 14 (62.8 and 84.9 mg N m⁻³) than in branch 15 (0.1 to 1.8 mg N m⁻³). Comparison of nitrite loads from both sources indicated higher values in the seepage water. Seepage loads for branch 15 and 14 were respectively 0.008 and 0.009 mg N s⁻¹ during summer low water, whereas these loads were 0.039 and 0.035 mg N s⁻¹ during fall recharge. The relative contribution of nitrite from seepage water to total stream inputs varied from 1 to 4 %, while tile drain water ranged between 0 to 2%. Ammonium concentrations were higher in seepage water during summer than fall recharge, with mean values reaching 2047 and 1427 mg N m⁻³ for respectively branches 15 and 14. Tile drain ammonium concentrations in branch 14 were higher than in branch 15 during the two hydrological regimes, with 1785 and 1933 mg N m⁻³ for summer low water and fall recharge respectively. Loads of NH₄⁺ were more important in seepage water, with similar values between branches and hydrologic regimes. Indeed, seepage water contributed significantly to NH₄⁺ loads in both stream sections during summer low water, with respectively 216 % and 53% for branches 15 and 14. Table 3 also shows that nitrate concentrations and loads from seepage water were very low compared that of tile drains. Tile drain water mean NO₃⁻ concentrations ranged from 10271 to 32892 mg N m⁻³ and loads varied from 0.1 to 5.6 mg N s⁻¹, with higher values during fall recharge. In both streams, tile drain water contributed from 2 to 24% to the NO₃⁻ stream inputs whereas seepage water contributed for 0%. Mean TN concentrations and loads were higher from tile drains water than

from seepage water. For both branches, values of TN load were higher during fall recharge. The sum of relative contribution of TN from seepage and tile drains waters was lower than 15%. Calculated C/N ratios from carbon and nitrogen content analysis in stream sediments demonstrated no significant difference between branches 15 (11.5) and 14 (12.0). The mean dissolved N₂O concentrations in seepage water from were 1218 ng N₂O L⁻¹ in branch 15 and 719 ng N₂O L⁻¹ branch 14. Statistical analysis revealed a significant difference in N₂O concentration between the two stream branches. For comparison, a water sample in equilibrium with N₂O atmospheric concentration would average 542 ng N₂O L⁻¹.

N retention

Nitrogen retention for each N-form normalized to stream section area for both hydrologic regimes was calculated for stream branches 15 and 14 (Fig. 5). Nitrite was slightly removed in branch 15 (0.001 and 0 mg N s⁻¹ m⁻²) whereas slightly exported (-0.002 and -0.001 mg N s⁻¹ m⁻²) in branch 14, for summer low water and fall recharge respectively. No significant difference in NO₂⁻ retention was observed between branches and hydrologic regimes. Ammonium was retained in branch 15 (0.007 and 0.024 mg N s⁻¹ m⁻²) and exported from branch 14 (-0.008 and -0.039 mg N s⁻¹ m⁻²), with significant (p<0.05) difference between summer low water and fall recharge. A significant (p<0.05) difference was also observed between branches 15 and 14 during fall recharge. Nitrate and TN were exported from both stream sections, with higher values during fall recharge. During fall recharge, NO₃⁻ and TN exports were greater in branch 15 (respectively, -0.387 and -0.461 mg N s⁻¹ m⁻²) than in branch 14 (respectively, -0.088 and -0.138 mg N s⁻¹ m⁻²). Stream branch 15 demonstrated higher exports of NO₃⁻ (-0.101 mg N s⁻¹ m⁻²) than TN (-0.052 mg N s⁻¹ m⁻²) during summer low water period. Similarly, higher NO₃⁻ than TN exports were also observed in branch 14, with -0.060 and -0.033 mg N s⁻¹ m⁻² for respectively both N-forms.

DISCUSSION

N Retention

Several studies have reported the importance of nitrogen retention in small streams for downstream ecosystems. However, evidence has also shown that increasing nitrogen loads in rivers induced a decrease in nitrogen retention efficiency, resulting in N exports (Peterson *et al.*, 2001, Mulholland *et al.*, 2008). The Bras d'Henri micro-watershed demonstrated important NO_2^+ , NH_4^+ , NO_3^- and TN exports from both stream sections in summer and fall, with higher values during fall recharge. In a review based on several studies working on N in streams of agricultural watersheds, Birgand *et al.* (2007) have highlighted the importance of nitrogen removal rates and efficiency during summer, a critical period for downstream ecosystems. However, N exports were observed in both stream branches of the Bras d'Henri micro-watershed although low summer stream discharge promoted N retention processes (Saunders and Kalff, 2001, Birgand *et al.*, 2007). The importance of nitrate exports in Bras d'Henri may be partially explained by the fact that NO_3^- is the main source of nitrogen originating from agricultural activities since nitrate is very stable and mobile in the environment. N fertilizers are frequently used in excess of crop requirements in this watershed (data not shown). Furthermore, our results demonstrated that nitrate accounted for most of the TN in both streams, with concentrations 10 to 100 times greater than ammonium and nitrite concentrations. While there is lack of information on nitrite retention in the literature, retention of NH_4^+ and NO_3^- has been widely documented in different environments. Martí and Sabater (1996) observed a higher retention efficiency for ammonium in a periphyton dominated stream; nitrate uptake lengths were longer than for ammonia. In a monitoring experiment on nitrogen dynamics in headwater streams, Peterson *et al.* (2001) determined that the NO_3^- ions traveled on average 10 times further than the NH_4^+ ion, indicating that NO_3^- removal is less efficient than NH_4^+ . Nitrite dynamics in head streams were not

investigated in the Peterson *et al.* (2001) study since NO_2^- concentrations were very low, and therefore included in NO_3^- concentrations analysis. The dynamic balance of N in streams is mainly controlled by inputs, nitrification, denitrification, plant uptake, sorption, sedimentation and decomposition in either the water column or at the sediment-water interface (Peterson *et al.*, 2001, Birgand *et al.*, 2007). The removal of ammonium from streams is mainly through assimilation by aquatic plants, nitrification and sediment sorption, while nitrate is removed by plant uptake and denitrification processes (Ehrlich and Slack, 1969, Triska *et al.*, 1989, Peterson *et al.*, 2001, Mulholland *et al.*, 2008). Furthermore, the higher longevity of nitrate in streams may also be explained by the fact that ammonium removal through nitrification in the water column and/or at the sediment-water interface generates nitrate input to streams, while nitrate removal through denitrification is mainly restricted to the anaerobic environments in bed stream sediments (Birgand *et al.*, 2007). NO_2^- and NH_4^+ removal during summer low water and fall recharge characterized stream branch 15 whereas in branch 14, both ions were exported during both hydrological regimes. Although significant differences between two branches were only observed for ammonium during fall recharge, this study demonstrated different N retention trends for NO_2^- and NH_4^+ from one stream branch to another at the scale of the micro-watershed. However, investigation of NO_2^- , NH_4^+ and NO_3^- sources within each stream branch would be essential to improve our understanding on N export and removal dynamics.

Note that we used a simplified hydrological budget approach to evaluate the seepage flow, an input source in the calculation of N retention. The area covered by the seepage-meter was considered too small to be representative of stream bed conditions, with less than 1% of the stream bed sections (branch 15 = 69.8m^2 , branch 14 = 119.8m^2). Indeed, streams and rivers are known to be hydrogeologically heterogeneous with preferential flow zones (Woessner, 2000,

Fleckenstein *et al.*, 2006). Additionally, the propagated error on linear extrapolation of seepage flow, from the seepage-meter area to the stream section area, was greater than 100% for both branches. Also, seepage-meter manipulations may have induced errors on flow measurement and interpretation inaccuracies. The seepage-meter size and construction materials, and the plastic bag collecting water may have limited accuracy and precision of flow measurements (Shaw and Prepas, 1989; Libelo and MacIntyre, 1994). An improper seepage-meter placement and insertion into the sediments may have also led to inconsistent results (Lee, 1977). All alterations of the natural sediment conditions may have modified the hydraulic gradient within the sediments and induced flow changes. For these reasons, we recommend estimating the seepage flow with a simplified hydrological budget approach.

N sources in streams

The two major streams in the Bras d'Henri micro-watershed are fed by a mix of contrasted groundwater chemistry resulting from *in situ* heterogeneous hydrogeologic conditions (Corriveau *et al.*, 2009). Stream branch 15 is mainly connected to the surficial aquifer, which is characterized by high NO_3^- and DO concentrations. In contrast, branch 14 is mostly supplied by the regional aquifer, where very low NO_3^- concentrations and anoxic conditions prevail. Thus, Corriveau *et al.* (2009) suggested that differences in groundwater sources may have partially influenced surface water chemistry and nitrogen dynamics in these streams. Significant differences in seepage water chemistry were observed between hydrologic regimes, whereas Corriveau *et al.* (2009) only observed slight variations in NO_3^- (27.4 and 25.1 mg N L⁻¹) and DO (8.2 and 7.1 mg DO L⁻¹) mean concentrations from the surficial aquifer between summer low water and fall recharge periods, respectively. We therefore suggest that the effects of groundwater chemistry, combined with its passage through the stream bed sediments, determine the processing of N and the

resulting seepage water chemistry. Oxidative and reductive microbial processes occurring within sediments are mostly responsible for N transformations through aquatic ecosystems, and may potentially result in important NO_2^- formation. These microbial processes are sensitive to seasonal changes and/or hydrologic regimes, and this may have partially explained the seepage water chemistry variations in both branches. This study demonstrated that NO_2^- in seepage water varied among the Bras d'Henri micro-watershed stream branches, and with the hydrologic regime. In both branches, higher NO_2^- concentrations in seepage water were observed during summer low water rather than during fall recharge period, whereas the relative contribution was higher during fall recharge. A few field studies allow comparing NO_2^- contributions from sediment-water to the total nitrite stream inputs. Seepage contribution from branches 15 and 14 were lower than findings of Smith *et al.* (1995) who estimated NO_2^- contributions originating from N transformations at the stream bed sediment-water interface to be 60%. Von der Wiesche and Wetzel (1998) determined NO_2^- concentrations in sediment interstitial water to be less than 20% of those measured in the overlying surface water, which are closer to the values observed in the Bras d'Henri micro-watershed. Stream bed morphology, sediment susceptibility to groundwater seepage and groundwater chemistry may have resulted in differential nitrite producing zones.

Nitrite formation and accumulation in the sediments and/or water column are governed by three biochemical pathways; nitrification, denitrification and DNRA. These processes are mainly influenced by bacterial population composition, oxygen concentrations, available C and N substrates, and surrounding environmental conditions (Kelso *et al.*, 1999; Stief *et al.*, 2002). Nitrate concentrations ($<1\text{mg N L}^{-1}$) measured in seepage water from both stream branches were lower than those measured in surface water (branch 15, from 4.46 to 5.67 $\text{mg NO}_3^- \text{-N L}^{-1}$; branch

14, from 1.66 to 2.07 mg NO₃⁻-N L⁻¹) by Corriveau *et al.* (2009). These observations agree with Carignan (1984) who found lower NO₃⁻ concentrations in interstitial water than in flowing water. Our results highlight an important reductive activity in river sediments from either denitrification or DNRA, leading to NO₃⁻ consumption. In most agricultural streams, anaerobic conditions in stream bed sediments are expected at a different depth. The high oxygen demand from organic matter decomposition and limited oxygen diffusion from the water column favours anaerobic zones formation in the sediments (Birgand *et al.*, 2007). High ammonium concentrations in seepage water samples, particularly during summer low water period, combined with NO₂⁻ accumulation, may indicate that DNRA was a significant microbial reductive pathway. Although, the importance of denitrification in the N budget in streams draining agricultural watersheds is well established in the literature, some studies have also reported evidence that DNRA can be a significant pathway in nitrate removal in streams (Birgand *et al.*, 2007). Kelso *et al.* (1999) provided evidence that carbon stored within the river sediment was sufficient to support DNRA and denitrification.

The sediment characteristics suggested that nitrite accumulation occurred due to DNRA, in conjunction with denitrification. DNRA is favoured over denitrification when organic carbon is abundant relative to nitrate (Tiedje, 1988). Stief (2001) suggested that incomplete denitrification was the prevalent process resulting in high interstitial nitrite concentrations observed in organically poor sediment cores with low extractable protein content. With similar C/N ratio values, Kelso *et al.* (1997) demonstrated that DNRA was responsible for NO₂⁻ accumulation in anaerobic sediments characterized by a C/N ratio of 12. Similarly, Smith (1982) determined that the predominant end production of DNRA was NO₂⁻ when the C/N molar ratio was lower than 17.36. In this study, the high nitrous oxide level found in seepage water is an indicator of N₂O

production, but we have not identified the processes responsible for its formation. Supersaturated seepage water in N_2O , with respect to the air, from branch 15 may have originated from incomplete denitrification since the NO_3^- substrate from the aquifer was more available than in stream branch 14. However, no N_2 was measured in stream water samples from the micro-watershed to determine the role of denitrification in nitrite accumulation. Subsequent nitrification of seepage water when reaching the stream flow may partially explain the low NH_4^+ and high NO_3^- concentrations found in both micro-watershed streams. Nitrite diffusing through the stream bed sediment-water interface may have been partially consumed by nitrification in the water column (Stief *et al.*, 2002). Smith *et al.* (1997) reported that nitrification rather than denitrification appears to be the dominant source of NO_2^- accumulation in small stream sediments. Furthermore, decomposition of organic matter in sediments may induce high ammonium concentrations in pore water, higher than those in the water column (Ponnamperuma, 1972). Ammonium concentrations in seepage water of both streams ranged from 319.33 to 2047.26 $mg\ N\ L^{-1}$ whereas concentrations measured in surface water by Corriveau *et al.* (2009) were lower and/or in the same range (from 0.076 to 0.333 $mg\ NH_4^+-N\ L^{-1}$). Howard-Williams *et al.* (1983) demonstrated that ammonium is released, followed by nitrite, nitrate and dissolved organic nitrogen, from macrophyte decomposition under laboratory conditions. Ammonium diffusing from anaerobic sediments through the aerobic sediment-water interface is nitrified or taken up by aquatic plants (Birgand *et al.*, 2007). Consequently, differences in groundwater NO_3^- concentrations feeding each stream branch combined with sediment organic matter content may significantly influence NH_4^+ concentrations found in seepage water, as well as NO_2^- concentrations.

Aside from these hypotheses on the microbiological processes responsible for nitrite formation and accumulation in seepage water, this study suggests that differences in groundwater chemistry influenced the seepage water chemistry, which may have partially explained the differences in NO_2^- and NH_4^+ export and removal dynamics from stream branches 15 and 14. Our field protocol aimed to establish the sources of high nitrite levels found in surface water by characterizing N in seepage and tile drain waters from both stream branch sections. However, our observations revealed that the contributions from these two sources could not account for NO_3^- and TN inputs in either stream during summer low water and fall recharge. For that purpose, further investigations will be needed on potential additional sources of N to the stream network. An evaluation of the impacts of lateral flow from high river banks, water from lateral extension of the hyporheic zone, surface runoff events, and biological activity on nitrogen dynamics in surface water will be necessary. Tracing in-stream dynamics of N forms, including nitrite, could be the solution but remains difficult because it is a complex function of nutrient concentrations, biotic and abiotic uptake activities, physical characteristics of streams, and advective transport along stream ecosystems.

CONCLUSIONS

To our knowledge, this study is the first to evaluate nitrite retention in two contrasting streams located in an intensively cropped watershed in order to characterize the sources of high in-stream nitrite levels. Seepage water was determined as a source of in-stream NO_2^- , which varied within the micro-watershed stream branches with the hydrologic regime. We suggest that differences in groundwater NO_3^- concentrations feeding each stream branch may significantly influence NH_4^+ and NO_2^- concentrations found in seepage water, which may potentially have resulted in significant in-stream NO_2^- peaks. Therefore, N processing at the bed stream sediment-water

interface is related to NO_3^- concentrations in shallow aquifer and indirectly to agricultural practices aiming the reduction of nutrient excesses in soil to minimize N transfer to stream by year-long leaching to the aquifer, by surface and lateral drainage, and by runoff during precipitation events. An improved understanding of the interactions between groundwater and seepage water is needed to identify the role of nitrification, denitrification and DNRA in nitrite formation and accumulation in streams. Further investigation is also needed on potential additional sources of N to the stream network since tracing NO_2^- dynamics is a complex function of nutrient concentrations, in-stream processes, and stream hydrogeological properties.

ACKNOWLEDGMENTS

Grateful thanks are addressed to Nadia Goussard, Geneviève Begin, Jean-Thomas Denault, Beata Novotna and Georges Thériault for their efficient contributions and suggestions while performing laboratory analyses of water samples, field work and data analysis, and to Peter G. C. Campbell, Normand Tassé, Roxane Maranger, Patricia Chamber and Douglas MacDonald for their advice in the revision of this manuscript. Particular thanks are addressed to the Institut national de la recherche scientifique en Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE) for its support and contribution to the study. This project has been funded by the Watershed Evaluation of BMPs (WEBs) and Information Gaps in Water Quality and Nutrients (GAPS Project 315) programs of AAFC.

REFERENCES

American Public Health Association (APHA) (1995) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Nineteenth Edition, American Public Health Association, Washington D.C.

Brigand, F., Skaggs, R.W., Chescheir, G.M. and Gilliam, J.W. (2007) Nitrogen removal in streams of agricultural catchments – A literature review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 37, 381.

Burns, L.C., Stevens, R.J., Smith, R.V. and Cooper, J.E. (1995) The occurrence and possible sources of nitrite in a grazed, fertilized, grassland soil. *Soil Biol. Biochem.*, 27, 47.

Carignan, R. (1984) Interstitial water sampling by dialysis: Methodical notes. *Limnol. Oceanogr.*, 29, 667.

Corriveau, J. (2005) Étude temporelle des émissions hivernales de protoxyde d'azote d'une parcelle agricole. Mémoire de maîtrise Institut National de la Recherche Scientifique - Eau, Terre et Environnement, Québec.

Corriveau, J., van Bochove, E., Bégin, G. and Cluis, D. (2008) Effect of preservation techniques on the determination of nitrite in freshwater samples. *Water Air Soil Pollut.* 93, 335.

Corriveau, J., van Bochove, E., Savard, M.M., Cluis, D. and Paradis, D. (2009) Occurrence of high in-stream nitrite levels in a temperate region agricultural watershed. *Water, Air, Soil Pollut.*, DOI 10.1007/s11270-009-0109-6.

Ehrlich, G.G., and Slack, K.V. (1969) Uptake and assimilation of nitrogen in microecological systems. In *Microorganic Matter in Water*. ASTM Eds., American Society for Testing and Materials, Philadelphia.

Fleckstein, J.H., Niswonger, R.G. and Fogg, G.E. (2006) River-Aquifer Interactions, Geologic Heterogeneity, and Low-Flow Management. *Ground water*, 44, 837.

Hébert, S. and Légaré, S. (2000) Suivi de la qualité des rivières et petits cours d'eau. Direction du suivi de l'état de l'environnement, ministère de l'Environnement, envirodoq n° ENV-2001-0141, rapport n° QE-123, Québec.

Howard-Williams, C., Pickmere, S., and Davies, J. (1988) The effect of nutrients on aquatic plant decomposition rates. *Verh. int. Ver. Limnol.*, 23, 1973.

Keeney, D.R. and Nelson, D.W. (1982) Nitrogen-inorganic forms. In *Methods of soils analysis: Part 2. Second Edition*, Page, A.L. (Ed), ASA and SSSA, Madison.

Kampbell, D.H., Wilson, J.T. and Vandegrift, S.A. (1989) Dissolved oxygen and methane in water by a GC headspace equilibration technique. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 36, 249.

Kelso, B.H.L. Glass, D.M. and Smith, R.V. (1999) Toxicity of nitrite to freshwater invertebrates. In *Managing Risks of Nitrates to Humans and the Environment*. W.S. Wilson, D.M. Ball, R.H. Hinton (Eds), Royal society of Chemistry, Cambridge, UK.

Kelso, B.H.L., Smith, R.V., Laughlin, R.J. and Lennox, S.D. (1997) Dissimilatory nitrate reduction in anaerobic sediments leading to river nitrite accumulation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, 4679.

Kroupova, H., MaChova, J. and Svobodova, Z. (2005) Nitrite influence on fish: a review. *Vet. Med. – Czech.*, 50, 461.

Kopecky, M. (2004) Possibilities of prognosis of origin of landslides in Slovakia based on climatic and hydrogeologic conditions. *Sborník vědeckých prací Vysoké školy báňské – Technické univerzity Ostrava, Řada hornicko-geologická*, L, 63.

Kuenen, J.G. and Robertson, L.A. (1988) Nitrification and denitrification. *The Nitrogen and Sulphur cycles*. Coles and Ferguson (Eds), Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Lee, D.R. (1977) A device for measuring seepage flux in lakes and estuaries. *Limnol. Oceanogr.*, 22, 140.

Lewis, W.M. and Morris, D.P. (1986). Toxicity of Nitrite to Fish: A Review. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 115, 183.

Libelo, E.L. and MacIntyre, W.G. (1994) Effects of surface-water movement on seepage-meter measurements of flow through the sediment-water interface. *Hydrogeol.*, 2, 49.

Macfarlane, G.T. and Herbert, R.A. (1984) Dissimilatory nitrate reduction and nitrification in estuarine sediments. *J. Gen. Microbiol.*, 130, 2301.

Marti, E. and Sabater, F. (1996) High variability in temporal and spatial nutrient retention in Mediterranean streams. *Ecology*, 77, 854.

Meybeck, M. (1982) Carbon, nitrogen, and phosphorus transport by world rivers. *Am. J. Sci.*, 282, 401.

Mulholland, P.J., Helton, A.M., Poole, G.C., Hall, R.O. Jr, 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 and Thomas, S.M. 2008 Stream denitrification across biomes and its response to anthropogenic nitrate loading. *Nature*, 452, 202.

Nkonge, C. and Ballance, G.M. (1982) A sensitive colorimetric procedure for nitrogen determination in micro-kjeldahl. *J. Agric. Food. Chem.*, 30, 416.

Paul, J.W. and Beauchamp, E.G. (1989) Denitrification and fermentation in plant-residue-amended soil. *Biol. Fert. Soils*, 7, 303.

Paul, E.A. and Clarke, F.E. (1989) Soil microbiology and biochemistry. Academic Press Inc., San Diego, CA.

Peterson, B.J., Wollheim, W.M., Mulholland, P.J., Webster, J.R., Meyer, J.L., Tank, J.L., Marti, E., Bowden, W.B., Valett, H.M., Hershey, A.E., McDowell, W.H., Dodds, W.K., Hamilton, S.K., Gregory, S. and Morrall, D.D. 2001 Control of nitrogen export from watersheds by headwater streams. *Science*, 292, 86.

Ponnamperuma, F.N. (1972) The chemistry of submerged soils. *Adv. Agron.* 24, 29.

Saunders, D.L. and Kalff, J. (2001) Nitrogen retention in wetlands, lakes and rivers. *Hydrobiologia*, 443, 205.

Shaw, R.D. and Prepas, E.E. (1989) Anomalous, short-term influx of water into seepage meters *Limnol. Oceanogr.*, 34,7, 1343.

Smith, M.S. (1982) Dissimilatory reduction of nitrite to ammonium and nitrous oxide by a soil *Citrobacter* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 43, 854.

Smith, R.V., Burns, L.C., Doyle, R.M., Lennox, S.D., Kelso, R.H., Foy, R.H. and Stevens, R.J. (1997) Free ammonia inhibition of nitrification in river sediments leading to nitrite accumulation. *J. Environ. Qual.*, 26, 1049.

Smith, R.V., Foy, R.H., Lennox, S.D., Jordan, C., Burns, J.E., Cooper, J.E. and Stevens, R.J. (1995) Occurrence of nitrite in the Lough Neagh River system. *J. Environ. Qual.*, 24, 952.

Smith, R. V. and Steward, D. A. (1989) A regression model of nitrate leaching in Northern Ireland. *Soil Use Manage.*, 5, 71.

Stief, P. (2001) Influence of sediment and pore-water composition on nitrite accumulation in a nitrate-perfused freshwater sediment. *Wat. Res.*, 35, 2811.

Stief, P., De Beer, D., and Neumann, D. (2002) Small-scale distribution of interstitial nitrite in freshwater sediment microcosms: The role of nitrate and oxygen availability, and sediment permeability. *Microb. Ecol.*, 43, 367.

Stief, P. and Neumann, D. (1998) Nitrite formation in sediment cores from nitrate-enriched running water. *Arch. Hydrobiologia*, 142, 153.

Tiedje, J.M. (1988) Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In *Biology of Anaerobic Microorganisms*. Zehnder, A.J.B. Eds., Wiley, New York.

Tiedje, J.M., Sexton, A.J., Myrold, D.D. and Robinson, J.A. (1982) Denitrification: ecological niches, competition and survival. *Anton. Leeuw. Int. J. G.*, 48, 569.

Triska, F.J., Kennedy, V.C., Avanzino, R.J., Zellweger, G.W., and Bencala, K.E. (1989) Retention and transport of nutrients in a third-order stream in northwestern California: Channel processes. *Ecology*, 70, 1877.

Turtura, G.C. and De Pascale, A. (1991) Qualità delle acque irrigue di Malalbergo (Bologna). *Ann. Microbiol.*, 41, 81.

van Bochove, E., Dechmi, F., Nolin, M.C., Chantigny, M.H., Lemieux, C., Thériault, G. and Corriveau, J. (2005) Evaluation of beneficial agricultural management practices on water quality at edge-of-field and micro-watershed scales in Southern Quebec, Canada. Proceedings of the International Water Association, 9th Diffuse Pollution Conference, Johannesburg, South Africa, August 16-19.

van Bochove, E., Thériault, G., Rochette, P., Jones, H.G., Pomeroy, J.W. (2001) Thick ice layers in snow and frozen soil affecting gas emissions from agricultural soils during winter. *J. Geophys. Res.*, 106, 23 061.

von der Wiesche, M. and Wetzel, A. (1998) Temporal and Spatial Dynamics of Nitrite Accumulation in the River Lahn. *Water Res.*, 32, 1635.

Woessner, W.W. (2000) Stream and fluvial plain ground water interactions: rescaling Hydrogeologic thought. *Ground water* 38, 423.

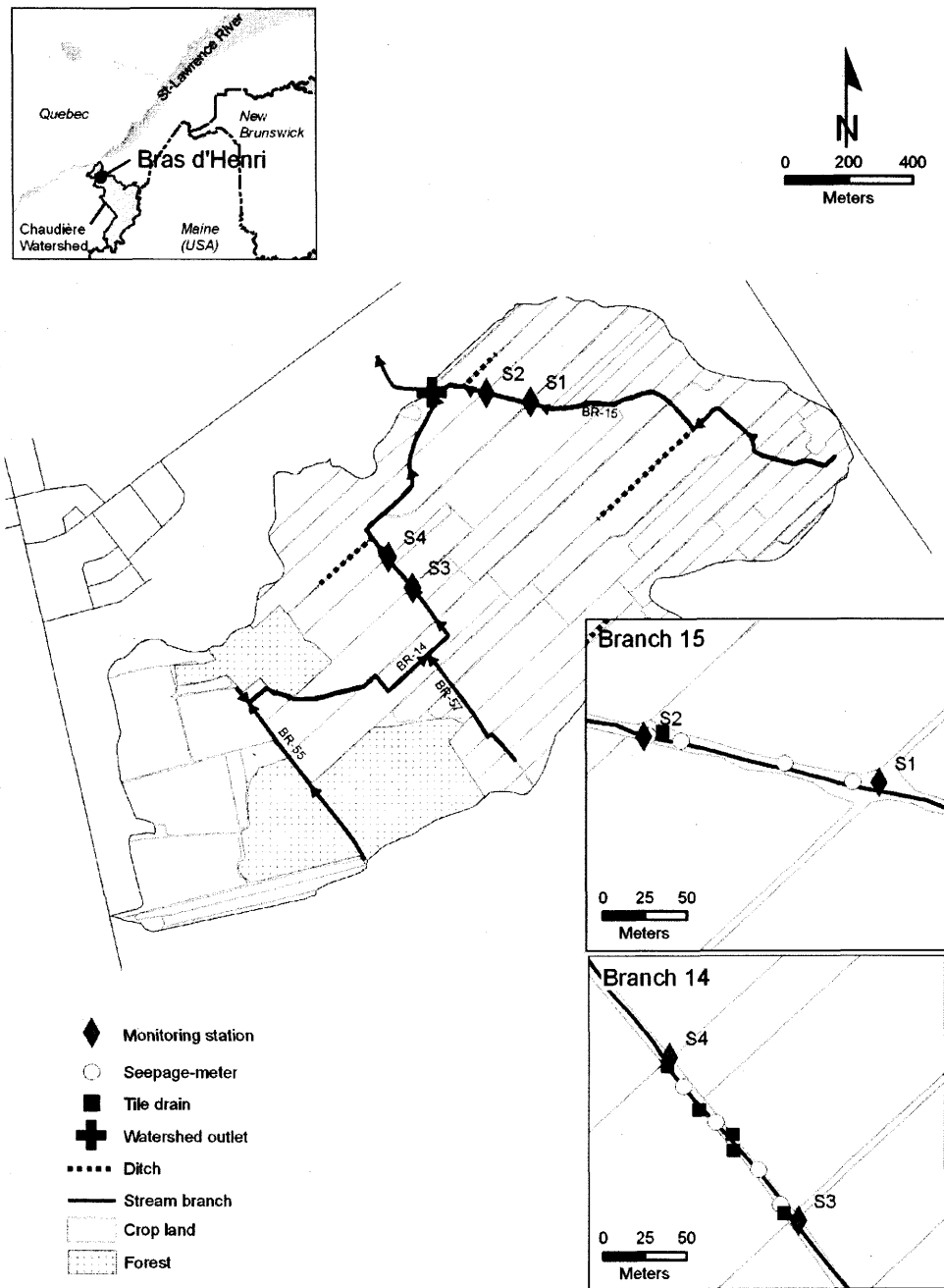


Figure 1. Map of the micro-watershed (2.4 km²) location identifying sampling stations S1 to S4 on stream branches 15 and 14. Map also shows close-ups of stream branches 15 and 14 to identify tile drains and seepage-meters position in respective stream.

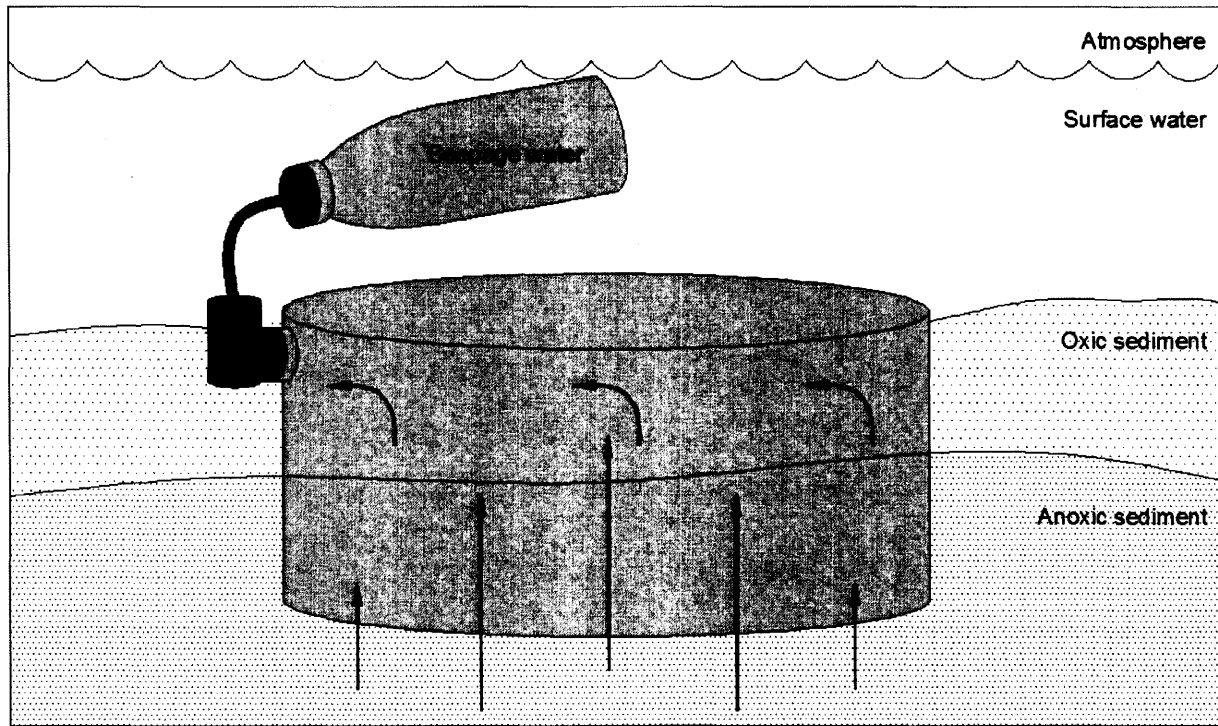


Figure 2. Seepage-meter used to collect aquifer water moving throughout the bed-sediments of stream branch.

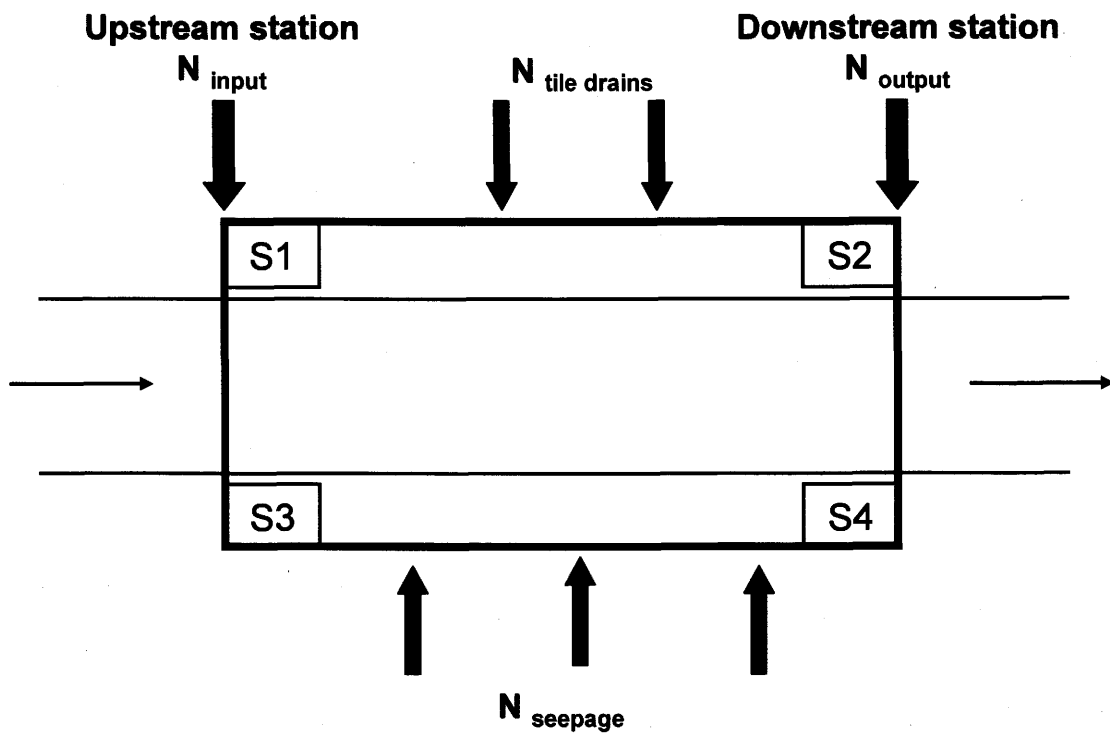


Figure 3 Schema of the simplified mass balance approach used to determine N retention in each stream branch section.

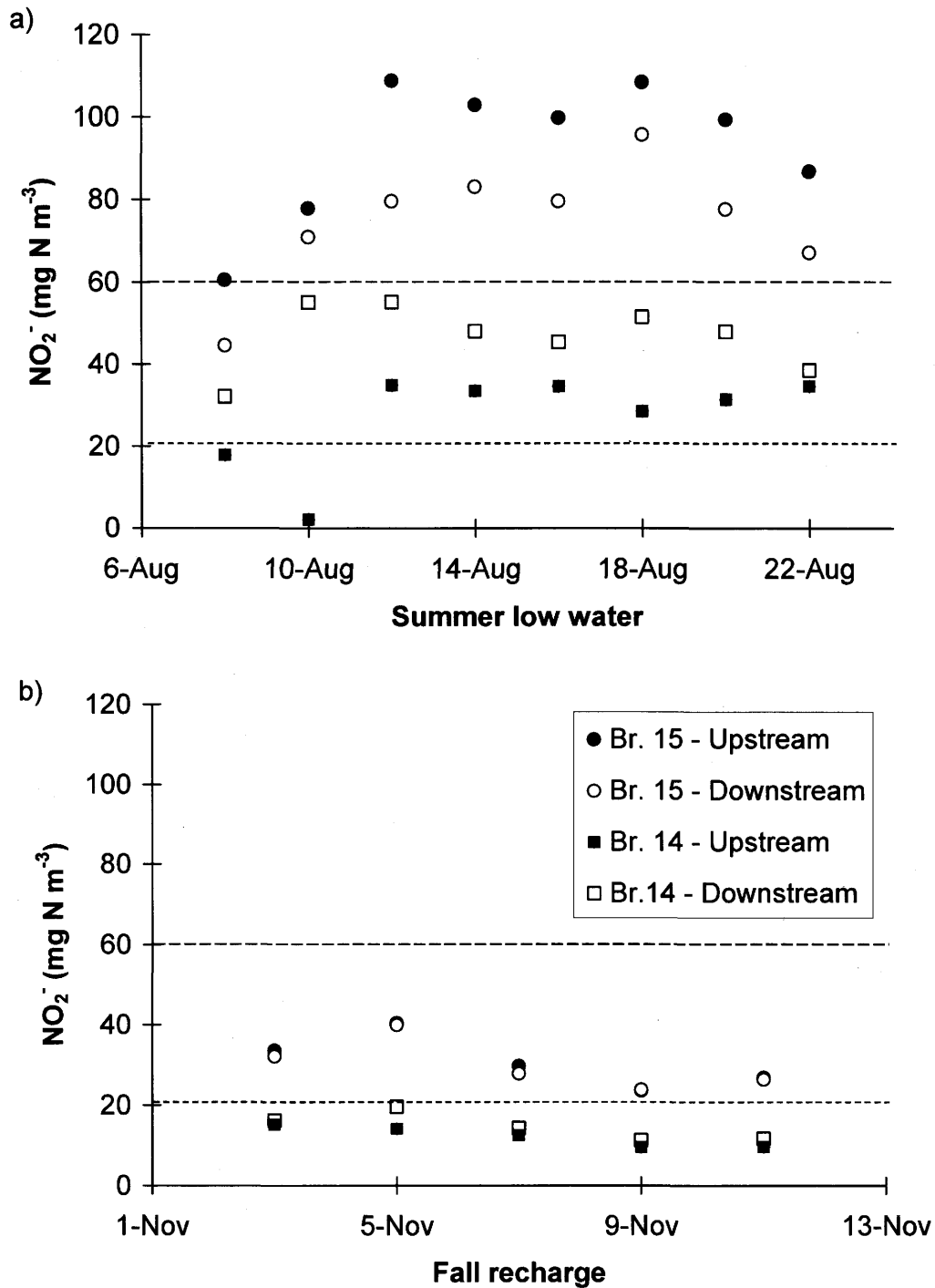


Figure 4. Nitrite concentrations measured in surface water at upstream and downstream sampling station of stream branches 15 and 14 during a) summer low water and b) fall recharge periods in 2006. Short and long grey dashes show guideline values for the protection of aquatic life for chronicle (20 mg N m⁻³) and acute (60 mg N m⁻³) exposition, respectively.

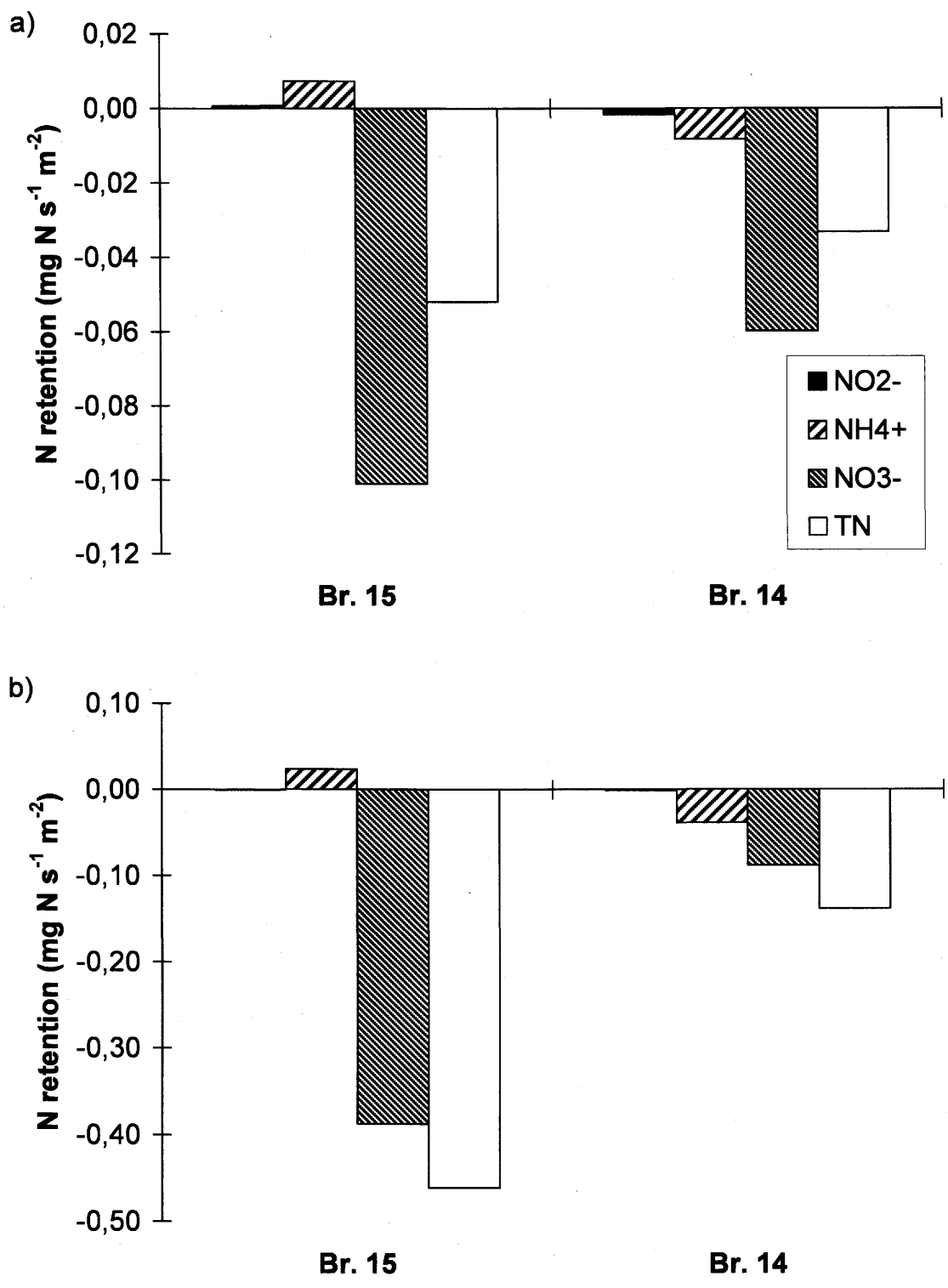


Figure 5. Nitrogen retention for the different N-forms in branches 15 and 14 during a) summer low water and b) fall recharge periods.

Table 1. Water discharge (Q) estimated for upstream (input) and downstream (output) sampling stations in stream branches 15 and 14 of the Bras d'Henri micro-watershed during summer low water (SLW) and fall recharge (FR) 2006.

Stream	Sampling station	Q (m ³ s ⁻¹)			
		SLW		FR	
Br. 15	Input	0.006*	a	0.035	a
	Output	0.006	a	0.038	b
Br. 14	Input	0.011	a	0.066	a
	Output	0.011	a	0.070	b

*Duncan multiple range test, different letters indicate significant difference between mean discharges within a stream branch (p < 0.05)

Table 2. Load for NO₂⁻, NH₄⁺, NO₃⁻ and TN at upstream (Input) and downstream (output) sampling stations in stream branches 15 and 14 of the Bras d'Henri micro-watershed during summer low water (SLW) and fall recharge (FR) 2006.

	Stream	Hydrologic period	Load (mg N s ⁻¹)				Duncan test ^a
			Input		Output		
NO ₂ ⁻	Br.15	SLW	0.522	(0.098)	0.456	(0.088)	
		FR	1.073	(0.248)	1.136	(0.260)	
	Br.14	SLW	0.288	(0.130)	0.528	(0.094)	*
		FR	0.803	(0.192)	1.025	(0.264)	*
NH ₄ ⁺	Br.15	SLW	0.266	(0.243)	0.388	(0.213)	
		FR	3.141	(0.466)	1.713	(1.127)	
	Br.14	SLW	2.525	(1.432)	4.503	(1.247)	**
		FR	6.767	(1.345)	13.581	(4.278)	*
NO ₃ ⁻	Br.15	SLW	17.626	(1.253)	28.595	(2.703)	
		FR	146.648	(19.627)	188.171	(17.972)	*
	Br.14	SLW	5.168	(1.960)	15.416	(1.411)	
		FR	169.478	(39.092)	187.879	(42.495)	
TN	Br.15	SLW	23.454	(2.390)	30.586	(2.793)	
		FR	175.396	(25.986)	227.821	(33.372)	*
	Br.14	SLW	13.416	(7.234)	20.589	(2.029)	
		FR	217.158	(50.056)	245.524	(48.758)	**

Standard deviation in parenthesis

^aDuncan multiple range test, indicating significant (* p<0.05, ** p<0.10) difference between upstream and downstream stations, within a stream branch

Table 3. Mean discharge (Q), concentration (C), load (L) and relative contribution (RC) for NO₂⁻, NH₄⁺, NO₃⁻ and TN from seepage and tile drains waters in stream branches 15 and 14 of the Bras d'Henri micro-watershed during summer low water (SLW) and fall recharge (FR) 2006.

Stream	Hydrologic Period	Seepage				Tile drains				
		Q (m ³ s ⁻¹)	C (mg N m ³)	L (mg N s ⁻¹)	RC (%)	Q (m ³ s ⁻¹)	C (mg N m ³)	L (mg N s ⁻¹)	RC (%)	
NO ₂ ⁻										
Br. 15	SLW	0.0004	18.78 (3.90)	0.008	1	0.0001	0.10 (1.16)	0.000	0	
	FR	0.0026	14.93 (18.68)	0.039	3	0.0004	1.80 (0.59)	0.001	0	
Br. 14	SLW	0.0005	19.73 (10.61)	0.009	3	0.0002	62.76 (39.74)	0.003	1	
	FR	0.0032	10.94 (9.15)	0.035	4	0.0011	84.94 (27.85)	0.013	2	
NH ₄ ⁺										
Br. 15	SLW	0.0004	2047.26 (555.09)	0.839	76	0.0001	18.71 (20.49)	0.001	0	
	FR	0.0026	346.50 (469.52)	0.901	22	0.0004	36.37 (39.33)	0.014	0	
Br. 14	SLW	0.0005	1427.34 (655.31)	0.671	20	0.0002	1785.05 (767.74)	0.109	3	
	FR	0.0032	319.33 (271.04)	1.022	13	0.0011	1933.13 (469.26)	0.223	3	
NO ₃ ⁻										
Br. 15	SLW	0.0004	8.91 (1.82)	0.004	0	0.0001	13130.03 (651.54)	0.985	5	
	FR	0.0026	124.98 (89.23)	0.325	0	0.0004	10271.03 (599.91)	2.923	2	
Br. 14	SLW	0.0005	16.10 (7.84)	0.008	0	0.0002	32892.37 (6007.34)	1.608	24	
	FR	0.0032	17.98 (14.23)	0.058	0	0.0011	25625.81 (7296.78)	5.598	3	
TN										
Br. 15	SLW	0.0004	2288.57 (1037.53)	0.938	4	0.0001	14097.05 (996.60)	1.057	4	
	FR	0.0026	1018.74 (1094.99)	2.649	1	0.0004	11063.69 (85.71)	4.193	2	
Br. 14	SLW	0.0005	1324.81 (536.25)	0.623	4	0.0002	36020.81 (6764.14)	1.760	11	
	FR	0.0032	601.14 (321.44)	1.924	1	0.0011	30638.26 (8845.85)	6.495	3	

Standard deviation in parenthesis



SECTION 3 : ANNEXES



Annexe A: Données brutes des concentrations de nitrite mesurées lors de l'évaluation des effets de la filtration, de la congélation et de réfrigération sur la conservation des échantillons d'eau douces, et ayant servi à la rédaction du chapitre 8 de cette thèse.



A.1 Données brutes de l'évaluation de l'effet de la filtration sur les concentrations de nitrite mesurées lors de deux expériences de dix échantillons et deux contrôles répétées par deux techniciens.

No. Répétition	Technicien	No. Éch	NO ₂ ⁻ (mg N L ⁻¹)	
			Non-filtré	Filtré
I	A	1	0,0195	0,0126
		2	0,0704	0,0525
		3	0,0153	0,0118
		4	0,0728	0,0728
		5	0,0392	0,0352
		6	0,0594	0,0450
		7	0,0200	0,0045
		8	0,0226	0,0184
		9	0,0198	0,0118
		10	0,0351	0,0335
		Ctrl 0,0456	0,4642	0,4279
		Ctrl 0,0456	0,4683	0,4341
	B	1	0,0204	0,0120
		2	0,0652	0,0535
		3	0,0160	0,0157
		4	0,0737	0,0718
		5	0,0385	0,0354
		6	0,0554	0,0414
		7	0,0202	0,0046
		8	0,0208	0,0176
		9	0,0199	0,0118
		10	0,0333	0,0320
Ctrl 0,0456	0,4527	0,4395		
Ctrl 0,0456	0,4575	0,4436		
II	A	1	0,0094	0,0089
		2	0,0396	0,0363
		3	0,0240	0,0184
		4	0,0408	0,0347
		5	0,0239	0,0194
		6	0,0291	0,0239
		7	0,0300	0,0249
		8	0,0259	0,0121
		9	0,0323	0,0296
		10	0,0304	0,0302
		Ctrl 0,0761	0,0705	0,0705
		Ctrl 0,0761	0,0694	0,0694
	B	1	0,0089	0,0079
		2	0,0372	0,0349
		3	0,0232	0,0180
		4	0,0383	0,0344
		5	0,0231	0,0193
		6	0,0288	0,0236
		7	0,0294	0,0240
		8	0,0325	0,0118
		9	0,0383	0,0288
		10	0,0383	0,0302
Ctrl 0,0761	0,0725	0,0678		
Ctrl 0,0761	0,0733	0,0670		

A.2 Données brutes de l'évaluation de l'effet de la congélation sur les concentrations de nitrite mesurées lors de trois expériences de dix échantillons et deux contrôles.

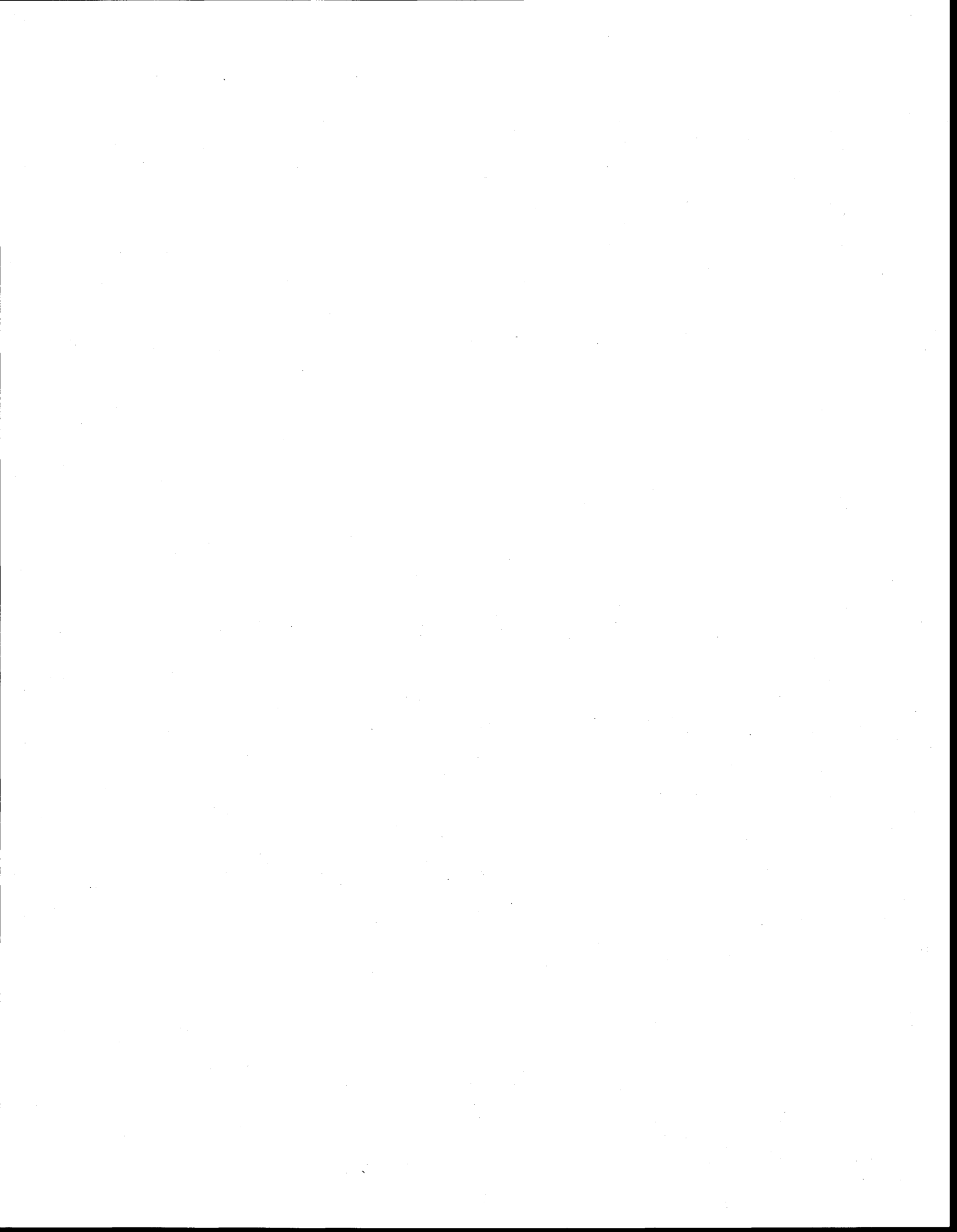
No. Répétition	No. Éch	NO ₂ ⁻ (mg N L ⁻¹)					
		Initiale	1 semaine	2 semaines	4 semaines	3 mois	6 mois
1	1	0,0089	0,0094	0,0092	0,0095	0,0096	0,0086
	2	0,0372	0,0369	0,0366	0,0365	0,0342	0,0321
	3	0,0232	0,0200	0,0199	0,0195	0,0174	0,0164
	4	0,0383	0,0381	0,0376	0,0381	0,0348	0,0327
	5	0,0231	0,0218	0,0209	0,0201	0,0194	0,0136
	6	0,0288	0,0264	0,0258	0,0266	0,0250	0,0214
	7	0,0294	0,0270	0,0256	0,0267	0,0222	0,0183
	8	0,0325	0,0243	0,0232	0,0221	0,0225	0,0157
	9	0,0383	0,0321	0,0317	0,0302	0,0312	0,0231
	10	0,0383	0,0333	0,0296	0,0338	0,0302	0,0209
	Ctrl 0,0761	0,0705	0,0251	0,0291	0,0288	0,0191	0,0137
	Ctrl 0,0761	0,0694	0,0332	0,0325	0,0208	0,0176	0,0086
2	1	0,0087	0,0084	0,0076	0,0087	n.d.	0,0079
	2	0,0443	0,0019	0,0392	0,0393	n.d.	0,0339
	3	0,0316	0,0274	0,0272	0,0269	n.d.	0,0215
	4	0,0440	0,0391	0,0401	0,0392	n.d.	0,0358
	5	0,0296	0,0259	0,0243	0,0252	n.d.	0,0193
	6	0,0339	0,0304	0,0294	0,0286	n.d.	0,0251
	7	0,0316	0,0243	0,0244	0,0225	n.d.	0,0177
	8	0,0316	0,0242	0,0236	0,0235	n.d.	0,0174
	9	0,0581	0,0489	0,0477	0,0469	n.d.	0,0375
	10	0,0313	0,0242	0,0239	0,0235	n.d.	0,0183
	Ctrl 0,0761	0,0755	0,0411	0,0073	0,0179	n.d.	0,0080
	Ctrl 0,0761	0,0757	0,0271	0,0290	0,0056	n.d.	0,0055
3	1	0,0091	0,0091	0,0097	0,0080	0,0098	0,0025
	2	0,0444	0,0435	0,0437	0,0429	0,0391	0,0381
	3	0,0223	0,0190	0,0185	0,0179	0,0178	0,0145
	4	0,0435	0,0434	0,0436	0,0424	0,0406	0,0377
	5	0,0323	0,0307	0,0315	0,0294	0,0288	0,0264
	6	0,0262	0,0248	0,0255	0,0233	0,0220	0,0201
	7	0,0320	0,0308	0,0306	0,0271	0,0230	0,0263
	8	0,0407	0,0342	0,0332	0,0298	0,0281	0,0216
	9	0,0278	0,0206	0,0229	0,0201	0,0155	0,0142
	10	0,0273	0,0216	0,0231	0,0197	0,0165	0,0151
	Ctrl 0,0761	0,0721	0,0239	0,0325	0,0093	0,0132	0,0118
	Ctrl 0,0761	0,0722	0,0296	0,0147	0,0159	0,0029	0,0106

n.d. = Donnée non-disponible

A.3 Données brutes de l'évaluation de l'effet de la réfrigération sur les concentrations de nitrite mesurées lors de trois expériences de dix échantillons et deux contrôles.

No. Répétition	No. Éch	NO ₂ ⁻ (mg N L ⁻¹)							
		Initiale	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5	Jour 6	Jour 7
1	1	0,0089	0,0094	0,0092	0,0096	0,0102	0,0100	0,0105	0,0099
	2	0,0372	0,0388	0,0365	0,0375	0,0374	0,0370	0,0363	0,0375
	3	0,0232	0,0242	0,0223	0,0226	0,0231	0,0223	0,0221	0,0215
	4	0,0383	0,0399	0,0376	0,0376	0,0364	0,0381	0,0375	0,0370
	5	0,0231	0,0241	0,0225	0,0231	0,0236	0,0229	0,0230	0,0222
	6	0,0288	0,0294	0,0278	0,0280	0,0286	0,0278	0,0282	0,0269
	7	0,0294	0,0303	0,0289	0,0288	0,0291	0,0283	0,0293	0,0283
	8	0,0325	0,0294	0,0266	0,0233	0,0248	0,0230	0,0223	0,0204
	9	0,0383	0,0360	0,0361	0,0354	0,0368	0,0351	0,0365	0,0341
	10	0,0383	0,0390	0,0359	0,0363	0,0370	0,0355	0,0357	0,0355
	Ctrl 0,0761	0,0705	0,0738	0,0710	0,0701	0,0716	0,0699	0,0685	0,0724
	Ctrl 0,0761	0,0694	0,0758	0,0712	0,0711	0,0667	0,0716	0,0710	0,0674
2	1	0,0087	0,0084	0,0085	0,0091	0,0089	0,0087	0,0088	0,0090
	2	0,0443	0,0412	0,0396	0,0386	0,0405	0,0395	0,0413	0,0404
	3	0,0316	0,0300	0,0291	0,0306	0,0297	0,0290	0,0305	n.d.
	4	0,0440	0,0415	0,0409	0,0427	0,0405	0,0410	0,0428	0,0407
	5	0,0296	0,0277	0,0275	0,0280	0,0278	0,0277	0,0295	0,0280
	6	0,0339	0,0322	0,0315	0,0332	0,0326	0,0324	0,0337	0,0323
	7	0,0316	0,0289	0,0279	0,0292	0,0276	0,0280	0,0291	0,0284
	8	0,0316	0,0286	0,0280	0,0289	0,0285	0,0275	0,0288	0,0272
	9	0,0581	0,0540	0,0522	0,0525	0,0519	0,0512	0,0539	0,0507
	10	0,0313	0,0292	0,0282	0,0291	0,0281	0,0295	0,0292	0,0282
	Ctrl 0,0761	0,0755	0,0706	0,0701	0,0723	0,0713	0,0704	0,0731	0,0705
	Ctrl 0,0761	0,0757	0,0715	0,0690	0,0734	0,0713	0,0708	0,0740	0,0707
3	1	0,0091	0,0095	0,0102	0,0098	0,0099	0,0103	0,0101	0,0097
	2	0,0444	0,0447	0,0454	0,0432	0,0433	0,0447	0,0424	0,0435
	3	0,0223	0,0217	0,0219	0,0209	0,0208	0,0210	0,0204	0,0201
	4	0,0435	0,0432	0,0449	0,0429	0,0430	0,0441	0,0427	0,0424
	5	0,0323	0,0323	0,0326	0,0315	0,0306	0,0327	0,0320	0,0322
	6	0,0262	0,0259	0,0269	0,0258	0,0254	0,0265	0,0252	0,0248
	7	0,0320	0,0314	0,0323	0,0318	0,0298	0,0325	0,0315	0,0312
	8	0,0407	0,0399	0,0400	0,0371	0,0359	0,0370	0,0344	0,0343
	9	0,0278	0,0269	0,0272	0,0259	0,0250	0,0257	0,0248	0,0250
	10	0,0273	0,0266	0,0270	0,0252	0,0253	0,0248	0,0243	0,0242
	Ctrl 0,0761	0,0721	0,0709	0,0748	0,0703	0,0708	0,0737	0,0692	0,0701
	Ctrl 0,0761	0,0722	0,0667	0,0740	0,0721	0,0701	0,0742	0,0710	0,0688

n.d. = Donnée non-disponible



Annexe B: Données brutes des différents paramètres de qualité de l'eau mesurés dans l'eau de surface des branches 15, 14 et 55 du micro-bassin versant du Bras d'Henri lors des campagnes d'échantillonnage de 2005 à 2007, et ayant servi à la rédaction des chapitres 9 et 10 de cette thèse.



Régime hydrologique	Branche	Station	Date	pH	EC S ^m	T °C	OD	N-NO ₂ ⁻	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺ mg L ⁻¹	NT	PT	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻
Étiage d'été	15	S1	2005-08-02	7.96	510	17.3	8.0	0.0984	3.565	0.145	4.610	0.063	8.304	36.276
			2005-08-04	7.88	501	15.5	8.5	0.0976	3.891	0.154	7.175	0.049	8.042	38.007
			2005-08-06	8.02	495	18.5	7.9	0.1316	4.259	0.117	n.d.	0.181	8.217	41.571
			2005-08-08	7.93	497	17.3	8.5	0.1436	4.254	0.081	5.159	0.081	8.275	42.735
			2005-08-10	n.d.	n.d.	17.0	8.3	0.1334	4.190	0.049	5.059	0.171	9.053	44.257
			2005-08-12	7.87	447	15.8	8.2	0.1508	4.498	0.112	5.470	0.186	8.794	44.602
			2005-08-14	7.93	455	16.3	9.5	0.0328	4.334	0.134	4.878	0.169	9.813	44.881
			2005-08-16	7.82	463	15.4	7.0	0.1344	4.450	0.123	7.964	0.089	9.368	45.297
			2005-08-18	8.16	398	13.1	9.4	0.1282	4.353	0.105	6.807	0.580	8.647	45.169
			2005-08-22	7.89	453	13.2	7.8	0.1302	3.770	0.119	5.167	0.236	9.172	43.379
		2006-08-08	7.76	437	16.9	10.3	0.0606	3.243	0.060	4.127	0.000	8.947	40.909	
		2006-08-10	7.56	428	15.0	8.0	0.0779	2.863	0.000	3.835	0.096	10.445	40.607	
		2006-08-12	7.72	431	14.4	7.8	0.1089	3.409	0.093	4.108	0.000	9.215	42.345	
		2006-08-14	7.78	436	14.9	7.8	0.1029	3.434	0.127	4.278	0.000	8.943	44.612	
		2006-08-16	7.79	426	15.7	8.6	0.0998	3.084	0.037	4.265	0.000	8.346	41.483	
		2006-08-18	7.75	431	15.8	7.4	0.1086	3.112	0.026	4.343	0.141	8.257	42.582	
		2006-08-20	7.70	435	14.1	7.1	0.0935	2.864	0.037	4.256	0.101	9.327	42.645	
		2006-08-22	7.68	445	15.4	7.1	0.0868	1.289	0.000	4.258	0.253	10.215	47.728	
		2005-08-02	7.81	510	16.7	9.1	0.0727	n.d.	0.064	6.885	0.043	n.d.	n.d.	n.d.
		2005-08-04	7.88	500	16.9	8.8	0.0767	6.093	0.142	n.d.	0.063	8.499	38.638	
2005-08-06	7.93	408	18.1	9.1	0.0891	6.999	0.099	n.d.	0.061	8.713	42.200			
2005-08-08	7.90	499	19.2	8.4	0.0949	7.109	0.000	7.695	0.043	8.826	43.491			
2005-08-10	n.d.	n.d.	18.7	9.7	0.0911	7.144	0.000	n.d.	0.100	9.276	44.359			
2005-08-12	7.93	186	18.0	9.2	0.0959	7.515	0.027	7.388	0.081	9.231	45.330			
2005-08-14	7.91	479	16.8	9.3	0.0195	7.116	0.097	7.821	0.087	9.348	44.720			
2005-08-16	7.98	478	15.8	9.5	0.0767	3.584	0.110	n.d.	0.238	7.259	36.877			
2005-08-18	8.31	469	13.5	10.3	0.0740	7.544	0.000	7.771	0.072	9.179	46.578			
2005-08-22	8.04	463	14.3	10.3	0.0844	6.732	0.033	n.d.	0.118	9.033	46.742			
2006-08-08	7.79	439	16.4	10.6	0.0446	5.212	0.000	4.455	0.000	n.d.	n.d.	n.d.		
2006-08-10	7.82	436	14.8	9.3	0.0710	4.650	n.d.	4.027	0.025	10.442	43.304			
2006-08-12	7.92	437	14.2	9.3	0.0796	5.407	0.082	4.827	0.000	9.081	44.340			
2006-08-14	7.95	450	14.3	8.3	0.0831	5.627	0.125	5.067	0.018	9.547	46.646			
2006-08-16	7.85	430	15.4	10.0	0.0796	5.214	0.076	4.732	0.000	8.560	44.247			
2006-08-18	7.84	439	15.5	8.6	0.0958	5.359	0.017	4.970	0.000	8.262	44.488			
2006-08-20	7.94	440	13.8	8.6	0.0778	5.137	0.054	4.512	0.063	9.332	45.041			
2006-08-22	7.81	447	16.4	7.1	0.0672	4.751	0.058	4.347	0.000	9.927	48.514			
2005-08-02	7.48	461	19.6	8.1	0.0147	1.020	0.233	1.900	0.088	9.964	21.594			
2005-08-04	7.35	545	18.0	7.8	0.0161	1.176	0.408	n.d.	n.d.	12.327	22.532			
2005-08-06	7.56	616	17.8	7.7	0.0173	0.885	0.487	1.544	0.048	13.183	21.951			
2005-08-08	7.35	609	17.5	5.1	0.0266	0.724	0.577	1.557	0.085	14.262	20.906			
2005-08-10	n.d.	n.d.	n.d.	8.0	0.0030	0.728	0.419	2.813	0.082	13.894	19.457			
2005-08-12	7.17	616	14.9	4.7	0.0195	0.725	0.882	1.879	0.095	14.776	18.984			
2005-08-14	7.21	590	16.2	5.1	0.0044	0.706	0.522	1.601	0.082	15.244	20.542			
2005-08-16	7.24	606	16.3	5.8	0.0219	0.721	0.932	1.687	0.092	14.703	18.880			
2005-08-18	7.36	607	13.2	6.1	0.0179	0.762	0.738	1.791	0.084	15.134	18.281			
2005-08-22	7.36	492	15.3	5.6	0.0404	n.d.	0.543	1.648	0.137	n.d.	n.d.			
2006-08-08	7.30	561	17.5	8.2	0.0179	0.724	0.081	0.930	0.022	13.019	30.614			
2006-08-10	7.21	561	14.8	9.7	0.0021	0.006	0.000	1.080	0.032	13.875	31.756			
2006-08-12	7.31	578	14.3	7.0	0.0349	0.694	0.218	1.012	0.000	13.450	31.138			
2006-08-14	7.33	594	14.7	6.9	0.0336	0.599	0.524	1.089	0.046	14.320	32.089			
2006-08-16	7.42	585	16.7	8.0	0.0346	0.421	0.274	0.901	0.000	13.712	28.079			
2006-08-18	7.36	609	17.6	6.6	0.0286	0.304	0.285	0.898	0.083	13.760	29.157			
2006-08-20	7.28	610	14.3	5.3	0.0315	0.192	0.288	1.938	0.000	14.110	27.472			
2006-08-22	7.25	529	15.2	5.8	0.0346	0.481	0.238	2.282	0.000	11.388	44.167			
2005-08-02	7.26	432	18.8	8.7	0.0222	1.598	0.423	2.580	0.082	9.794	20.133			
2005-08-04	7.19	484	17.7	6.6	0.0320	1.903	0.645	n.d.	0.043	10.818	18.236			
2005-08-06	7.26	515	17.1	7.3	0.0451	1.853	0.767	2.892	0.034	11.184	17.164			
2005-08-08	7.22	517	17.7	4.9	0.0689	1.766	0.809	2.886	0.036	11.170	15.861			
2005-08-10	n.d.	n.d.	n.d.	6.2	0.0190	1.499	0.749	n.d.	0.172	11.086	14.910			
2005-08-12	7.21	487	15.8	3.1	0.0834	1.657	0.675	3.773	0.245	11.825	13.676			

Régime hydrologique	Branche	Station	Date	pH	EC S m ⁻¹	T °C	OD	N-NO ₂ ⁻	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺ mg L ⁻¹	NT	PT	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻
			2005-08-14	7,22	479	17,1	4,6	0,0199	1,292	0,494	2,234	0,080	12,184	14,425
			2005-08-16	7,22	471	17,2	5,7	0,0769	1,318	0,652	2,232	0,075	11,854	14,289
			2005-08-18	7,34	471	14,0	5,7	0,0632	1,437	0,560	2,449	0,066	11,718	13,462
			2005-08-22	7,32	384	16,2	6,3	0,0148	1,327	0,431	2,185	0,089	11,226	24,091
			2006-08-08	7,11	521	19,2	8,7	0,0322	1,447	0,403	1,696	0,035	12,377	26,058
			2006-08-10	7,12	510	14,9	6,6	0,0551	1,494	0,385	1,853	0,036	12,610	25,314
			2006-08-12	7,14	515	14,0	7,1	0,0552	1,488	0,483	1,856	0,013	12,173	24,698
			2006-08-14	7,23	513	14,3	6,4	0,0480	1,512	0,636	2,074	0,061	12,442	24,452
			2006-08-16	7,26	519	16,0	9,9	0,0454	1,362	0,308	1,954	0,000	12,847	23,154
			2006-08-18	7,19	503	16,6	8,3	0,0516	1,306	0,366	1,753	0,081	12,015	22,061
			2006-08-20	7,21	527	14,8	5,6	0,0480	1,195	0,343	1,629	0,000	12,513	21,734
			2006-08-22	7,14	471	15,7	6,4	0,0385	1,125	0,268	1,783	0,021	10,558	37,517
	55	S5	2005-08-02	8,23	561	17,3	8,4	0,0037	0,473	0,117	1,578	0,138	28,786	6,449
			2005-08-04	8,13	442	19,5	6,6	0,0000	0,477	0,145	1,095	0,154	14,689	7,811
			2005-08-06	7,02	369	18,2	8,5	0,0034	0,503	0,116	0,998	0,151	10,613	8,491
			2005-08-08	8,08	205	18,7	6,1	0,0049	0,490	0,157	1,587	0,055	9,216	8,303
			2005-08-10	n.d.	n.d.	19,9	6,1	0,0029	0,346	0,153	0,734	0,225	8,204	7,401
			2005-08-12	8,33	556	16,3	6,1	0,0039	0,457	0,070	4,386	0,228	9,611	6,794
			2005-08-14	8,18	278	17,8	5,6	0,0012	0,449	0,089	0,955	0,192	7,979	7,038
			2005-08-16	8,11	388	17,7	6,5	0,0094	0,473	0,158	n.d.	n.d.	8,922	6,357
			2005-08-22	8,13	298	16,0	7,6	0,0037	0,446	0,000	1,307	0,466	4,755	9,642
			2006-08-08	7,93	438	17,3	7,2	0,0000	0,015	0,010	1,877	0,378	1,004	0,177
			2006-08-10	7,91	347	15,3	7,6	0,0109	0,836	0,000	1,156	0,386	9,685	7,124
			2006-08-12	7,90	437	12,3	6,2	0,0072	0,559	0,114	1,453	0,376	14,836	7,947
			2006-08-14	8,05	326	14,6	7,0	0,0037	0,401	0,154	0,964	0,336	9,870	8,824
			2006-08-16	8,00	369	16,2	6,3	0,0047	0,350	0,135	0,955	0,411	7,632	8,160
			2006-08-18	8,03	368	17,5	6,1	0,0052	0,361	0,086	0,922	0,402	8,391	7,992
			2006-08-20	7,95	365	15,5	8,1	0,0120	0,374	0,063	0,995	0,440	9,991	7,350
			2006-08-22	7,96	470	16,8	7,1	0,0051	0,016	0,131	1,108	0,331	17,281	62,603
		S6	2005-08-02	8,21	537	18,6	8,0	0,0049	0,455	0,132	1,416	0,145	26,179	5,732
			2005-08-04	8,16	399	21,5	6,8	0,0091	0,481	0,180	1,107	0,043	15,116	6,398
			2005-08-06	8,09	434	18,8	8,5	0,0105	0,492	0,232	1,087	0,121	11,384	5,719
			2005-08-08	7,90	380	19,1	4,1	0,0191	0,405	0,592	1,261	0,114	8,289	4,612
			2005-08-10	n.d.	n.d.	20,5	3,8	0,0084	0,326	0,336	1,106	0,187	8,641	4,918
			2005-08-12	8,11	395	16,5	5,5	0,0038	0,460	0,086	0,742	0,212	9,821	6,862
			2005-08-14	8,02	456	18,0	2,8	0,0018	0,270	0,938	1,785	0,280	5,458	4,604
			2005-08-22	8,20	235	15,9	8,2	0,0038	0,477	0,000	0,931	0,227	4,040	10,176
			2006-08-08	8,10	445	17,6	5,5	0,0000	0,005	0,358	1,695	0,288	17,526	5,628
			2006-08-10	7,89	305	15,7	8,8	0,0305	0,008	0,000	0,996	0,417	8,461	5,616
			2006-08-12	8,04	439	12,6	7,7	0,0150	0,496	0,139	1,328	0,401	16,106	6,073
			2006-08-14	8,03	370	14,8	6,8	0,0132	0,376	0,287	1,478	0,343	11,227	6,186
			2006-08-16	8,10	373	16,7	6,3	0,0149	0,288	0,129	0,941	0,315	8,199	5,338
			2006-08-18	7,94	392	17,1	10,7	0,0177	0,339	0,181	0,935	0,296	8,048	4,637
			2006-08-20	8,07	335	15,1	8,2	0,0208	0,363	0,155	1,181	0,429	7,025	4,949
			2006-08-22	7,99	459	16,8	7,8	0,0112	0,347	0,161	1,161	0,279	15,441	55,518
Recharge automnale	15	S1	2005-10-23	7,44	477	10,2	14,5	n.d.	8,586	0,000	9,687	0,031	9,660	40,095
			2005-10-25	7,37	488	7,6	11,0	n.d.	8,403	0,019	8,315	0,034	9,944	41,970
			2005-10-29	7,21	420	6,9	10,5	n.d.	7,837	0,000	7,994	0,113	8,713	33,048
			2005-10-29	7,21	408	7,0	12,1	n.d.	9,369	0,209	9,689	0,030	9,836	39,639
			2005-10-31	7,41	455	9,5	10,2	n.d.	8,736	0,122	8,874	0,040	10,051	41,488
			2005-11-02	7,52	471	7,5	10,5	n.d.	n.d.	0,414	7,710	0,046	n.d.	n.d.
			2006-11-03	7,40	448	4,4	7,6	0,0336	4,292	0,098	5,739	0,048	7,140	29,224
			2006-11-05	7,62	433	5,6	11,4	0,0405	4,833	0,088	5,620	0,000	8,432	35,118
			2006-11-07	7,38	312	7,7	n.d.	0,0297	3,772	0,101	4,790	0,000	8,219	29,908
			2006-11-09	7,32	390	7,5	10,6	0,0236	3,570	0,074	4,209	0,035	9,637	28,502
			2006-11-11	7,59	432	6,2	10,1	0,0268	4,591	0,000	4,829	0,055	9,165	33,717
		S2	2005-10-23	7,46	480	9,0	13,9	n.d.	9,263	0,020	9,518	0,026	9,778	40,458
			2005-10-25	7,45	491	7,9	11,2	n.d.	9,341	0,202	9,644	0,024	10,008	42,492
			2005-10-29	7,16	413	6,8	10,9	n.d.	8,698	0,000	9,075	0,101	9,571	33,966
			2005-10-29	7,25	446	6,8	11,2	n.d.	10,085	0,095	n.d.	0,033	10,006	40,395

Régime hydrologique	Branche	Station	Date	pH	EC S m ⁻¹	T °C	OD	N-NO ₂ ⁻	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺ mg L ⁻¹	NT	PT	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻
14			2005-10-31	7.44	454	9.4	10.8	n.d.	9.617	0.133	9.661	0.026	10.167	42.571
			2005-11-02	7.54	466	7.5	12.4	n.d.	8.642	0.153	8.607	0.028	10.538	42.619
			2006-11-01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.0216	4.404	0.095	5.947	0.018	6.963	25.453
			2006-11-03	7.57	447	5.3	9.0	0.0322	5.235	0.086	7.079	0.012	7.263	31.248
			2006-11-05	7.71	447	4.9	12.4	0.0400	0.541	0.018	6.421	0.000	7.945	31.400
			2006-11-07	7.50	420	7.6	n.d.	0.0278	4.807	0.000	5.605	0.000	7.980	30.571
			2006-11-09	7.37	386	7.4	10.9	0.0238	4.406	0.069	5.138	0.046	9.349	29.423
			2006-11-11	7.61	434	6.3	11.2	0.0264	5.433	0.064	5.878	0.000	8.926	34.322
			2005-10-23	7.30	346	8.8	11.1	n.d.	4.733	0.060	5.549	0.044	9.939	24.747
			2005-10-25	7.18	390	7.6	12.1	n.d.	5.021	0.338	4.857	0.043	10.486	25.679
2005-10-29	7.08	240	6.8	11.5	n.d.	4.119	0.000	4.855	0.088	6.946	18.163			
2005-10-29	7.12	314	6.2	10.7	n.d.	4.890	0.252	n.d.	0.038	9.143	24.420			
2005-10-31	7.15	340	9.1	9.5	n.d.	4.824	0.177	5.261	0.037	9.953	26.734			
2005-11-02	7.23	364	8.3	10.6	n.d.	n.d.	0.135	5.061	0.038	n.d.	n.d.	n.d.		
2006-11-03	7.37	352	4.3	7.7	0.0153	2.842	0.096	4.080	0.025	7.426	18.408			
2006-11-05	7.33	377	4.6	10.9	0.0142	3.155	0.134	3.855	0.000	8.936	22.692			
2006-11-07	7.24	317	6.1	11.7	0.0125	2.226	0.108	2.851	0.000	8.858	18.944			
2006-11-09	7.29	289	6.9	10.0	0.0096	1.759	0.088	2.391	0.026	9.909	17.786			
2006-11-11	7.25	324	5.7	10.0	0.0096	2.895	0.089	3.323	0.097	9.331	20.867			
2005-10-23	7.08	356	8.4	10.5	n.d.	5.216	0.180	5.921	0.033	9.954	24.431			
2005-10-25	7.08	386	6.8	9.5	n.d.	4.726	0.192	5.851	0.046	10.555	27.775			
2005-10-29	7.03	241	6.1	11.7	n.d.	4.014	0.000	4.942	0.085	6.830	17.621			
2005-10-29	6.96	311	5.5	11.6	n.d.	5.127	0.304	5.546	0.041	9.203	23.446			
2005-10-31	7.10	341	9.3	10.4	n.d.	n.d.	0.208	5.600	0.045	n.d.	n.d.	n.d.		
2005-11-02	7.18	359	8.3	10.4	n.d.	4.499	0.339	n.d.	0.045	10.346	24.985			
2005-11-01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.0077	2.114	0.048	3.437	0.038	6.797	14.698			
2006-11-03	7.21	346	4.2	6.3	0.0163	3.018	0.246	4.268	0.007	7.709	18.110			
2006-11-05	7.26	371	4.7	10.3	0.0197	3.253	0.246	3.928	0.000	8.799	21.200			
2006-11-07	7.19	318	5.2	11.4	0.0143	2.343	0.209	3.183	0.000	8.407	18.304			
2006-11-09	7.02	296	6.4	10.0	0.0112	1.844	0.143	2.673	0.291	9.739	17.472			
2006-11-11	7.21	325	5.8	9.9	0.0117	2.947	0.126	3.485	0.020	9.169	20.063			
2005-10-23	8.01	489	7.5	11.8	n.d.	2.535	0.000	n.d.	0.097	18.489	29.497			
2005-10-25	8.05	506	6.3	11.2	n.d.	1.952	0.081	2.001	0.070	19.731	29.866			
2005-10-29	7.89	271	4.6	12.6	n.d.	1.685	0.069	2.566	0.150	8.865	17.224			
2005-10-29	7.96	381	3.8	15.2	n.d.	2.602	0.135	3.336	0.099	14.457	25.812			
2005-10-31	8.35	443	9.1	11.9	n.d.	2.528	0.105	2.932	0.098	17.325	28.480			
2005-11-02	8.15	477	7.4	12.4	n.d.	1.784	0.506	2.171	0.097	19.291	26.891			
2006-11-03	8.16	878	2.4	10.5	0.0019	1.190	0.068	2.277	0.134	13.414	22.432			
2006-11-05	7.96	396	2.8	12.9	0.0014	1.378	0.057	1.914	0.090	15.211	25.869			
2006-11-07	8.06	395	4.7	14.2	0.0019	1.177	0.065	1.937	0.127	14.575	20.445			
2006-11-09	7.95	317	6.6	12.1	0.0022	0.737	0.000	1.552	0.145	12.401	16.702			
2006-11-11	8.28	392	5.1	12.8	0.0016	1.120	0.062	1.760	0.123	14.545	20.098			
2005-10-23	8.04	412	8.9	12.9	n.d.	1.980	0.000	2.954	0.080	15.071	24.972			
2005-10-25	7.88	446	6.6	11.0	n.d.	1.578	n.d.	2.267	0.063	16.764	26.008			
2005-10-29	7.89	271	4.4	14.6	n.d.	n.d.	0.288	2.052	0.120	n.d.	n.d.			
2005-10-29	8.00	328	4.1	13.8	n.d.	2.037	0.095	2.664	0.088	11.936	21.744			
2005-11-02	8.17	389	9.8	10.8	n.d.	2.063	0.130	2.774	0.072	14.538	24.630			
2006-11-01	n.d.	417	7.5	10.8	n.d.	1.213	0.118	1.771	0.075	16.423	23.820			
2006-11-03	8.15	450	n.d.	n.d.	0.0039	0.598	0.036	1.523	0.187	7.703	12.274			
2006-11-05	8.04	411	2.5	10.3	0.0025	0.916	0.078	3.078	0.098	10.854	18.223			
2006-11-07	7.99	324	4.2	12.5	0.0018	1.081	0.072	1.692	0.070	12.648	21.496			
2006-11-09	7.89	277	6.3	12.3	0.0023	0.563	0.047	1.212	0.112	10.085	14.142			
2006-11-11	8.25	316	5.4	12.7	0.0021	0.804	0.027	1.362	0.104	11.340	16.080			
2006-04-14	7.26	342	4.9	12.0	0.0302	5.206	0.106	6.305	0.089	6.282	25.754			
2006-04-16	7.05	283	6.3	8.8	0.0408	2.909	0.170	4.619	0.131	5.770	15.422			
2006-04-18	7.27	369	6.9	10.4	0.0218	5.587	0.000	6.917	0.054	7.995	26.755			
2007-04-26	7.61	375	4.2	10.3	0.0386	3.609	0.099	4.066	0.051	7.722	29.829			
2007-04-28	7.58	345	4.8	10.7	0.0275	2.387	0.175	3.365	0.067	9.438	20.869			
2007-05-01	7.42	330	6.5	11.2	0.1147	n.d.	0.117	3.353	0.091	n.d.	n.d.			

Fonte printanière

Régime hydrologique	Branche	Station	Date	pH	EC S m ⁻¹	T °C	OD	N-NO ₂	N-NO ₃	N-NH ₄ ⁺ mg L ⁻¹	NT	PT	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻
14	S2	S2	2006-04-14	7,17	338	5,9	11,5	0,0308	5,282	0,113	6,009	0,060	6,171	25,026
			2006-04-16	7,10	287	6,2	9,0	0,0545	3,475	0,158	10,852	0,124	5,942	16,972
			2006-04-18	7,23	372	6,3	11,3	0,0353	6,106	0,000	7,261	0,050	7,379	27,512
			2007-04-24	7,31	286	5,4	10,4	0,0260	2,406	0,231	4,032	0,046	6,778	17,230
			2007-04-26	7,64	379	3,2	10,4	0,0390	3,714	0,078	4,088	0,046	7,415	29,826
			2007-04-28	7,59	341	4,6	13,3	0,0296	2,792	0,129	3,528	0,082	9,159	21,590
			2007-05-01	7,48	329	4,9	12,2	0,0220	3,238	0,111	3,981	0,097	7,101	21,457
	S3	S3	2006-04-05	6,76	154	1,1	12,6	0,0030	1,517	0,155	2,590	0,115	3,075	7,889
			2006-04-06	6,83	183	1,8	12,8	0,0126	1,472	0,123	2,613	0,127	3,528	9,043
			2006-04-08	6,79	157	1,7	13,1	0,0068	1,514	0,086	2,580	0,102	3,264	8,480
			2006-04-10	6,84	174	2,8	12,9	0,0061	1,649	0,119	2,529	0,075	3,605	8,840
			2006-04-12	6,89	132	5,8	12,5	0,0133	1,437	0,050	1,966	0,082	3,052	8,332
			2006-04-14	6,88	135	3,9	12,8	0,0095	1,227	0,035	1,762	0,062	2,974	8,627
			2007-04-24	6,88	98	3,4	13,0	0,0287	0,917	0,241	1,394	0,122	2,860	5,248
S4	S4	2007-04-26	7,11	140	6,8	11,1	0,0336	1,283	0,110	1,822	0,084	4,274	8,929	
		2007-04-28	7,30	162	4,0	12,4	0,0344	1,351	0,182	1,769	0,109	4,720	9,388	
		2007-05-01	7,18	166	5,5	12,6	0,0000	1,805	0,173	2,410	0,047	4,569	9,273	
		2006-04-05	6,77	156	1,0	13,0	0,0024	1,594	0,170	2,512	0,111	3,109	7,919	
		2006-04-06	6,81	189	1,0	12,2	0,0219	1,679	0,141	3,131	0,227	3,768	10,191	
		2006-04-08	6,86	161	2,1	12,1	0,0064	1,629	0,220	2,705	0,108	3,533	8,671	
		2006-04-10	6,84	182	2,4	12,6	0,0051	1,840	0,173	2,674	0,076	3,780	10,347	
55	S5	S5	2006-04-12	6,77	136	6,7	12,1	0,0110	1,562	0,099	2,046	0,078	3,315	8,541
			2006-04-14	6,92	128	4,3	12,7	0,0077	1,382	0,040	1,953	0,064	3,746	9,010
			2007-04-24	7,51	287	3,2	11,2	0,0299	0,973	0,326	1,449	0,109	2,756	5,291
			2007-04-26	6,99	145	6,0	12,3	0,0289	1,344	0,077	1,773	0,074	4,269	8,970
			2007-04-28	7,21	170	4,0	12,8	0,0333	1,235	0,262	1,703	0,083	4,780	9,643
			2007-05-01	7,11	171	5,9	12,5	0,0363	1,772	0,184	2,712	0,111	4,818	9,391
			2006-04-05	7,22	227	0,5	13,7	0,0022	0,568	0,869	2,689	0,291	6,820	9,196
	S6	S6	2006-04-06	7,40	285	1,5	13,2	0,0134	0,662	0,969	2,873	0,295	8,493	11,094
			2006-04-08	7,35	282	1,5	13,0	0,0090	0,520	1,116	4,262	0,479	9,095	10,403
			2006-04-10	7,49	298	2,1	13,3	0,0055	0,628	1,082	2,969	0,295	9,673	11,008
			2006-04-12	7,56	256	5,4	12,5	0,0130	1,018	0,948	3,203	0,244	8,839	9,253
			2006-04-14	7,68	283	4,7	12,5	0,0035	0,009	0,000	3,305	0,308	0,512	0,105
			2007-04-24	7,49	159	5,8	14,2	0,0153	0,900	0,294	1,486	0,132	5,466	5,189
			2007-04-26	7,77	250	6,3	13,1	0,0105	1,482	0,000	1,839	0,097	7,799	9,561
55	S5	2007-04-28	7,80	241	4,5	12,8	0,0094	0,750	0,000	1,389	0,089	8,519	8,482	
		2007-05-01	7,83	217	5,6	14,3	0,0043	1,009	0,113	1,679	0,105	6,060	7,606	
		2006-04-05	7,23	177	0,3	13,7	0,0013	0,558	0,722	2,263	0,230	5,592	8,161	
		2006-04-06	7,49	231	2,0	13,5	0,0098	0,584	0,896	2,700	0,232	6,612	9,178	
		2006-04-08	7,46	203	1,5	14,4	0,0068	0,482	1,219	3,027	0,323	6,331	8,389	
		2006-04-10	7,61	201	2,4	13,6	0,0030	0,506	0,626	2,101	0,199	6,097	7,926	
		2006-04-12	7,49	180	6,2	12,5	0,0107	0,734	0,504	2,195	0,149	5,591	7,028	
55	S5	2006-04-14	7,69	232	5,6	12,6	0,0095	0,719	0,466	2,472	0,232	7,135	7,417	
		2007-04-24	7,22	108	3,4	13,7	0,0136	0,706	0,309	1,054	0,096	3,221	3,963	
		2007-04-26	7,69	169	6,7	12,0	0,0158	1,062	0,000	1,256	0,091	4,983	6,825	
		2007-04-28	7,85	189	5,1	12,6	0,0130	0,620	0,084	1,226	0,089	6,296	7,006	
		2007-05-01	7,80	173	5,6	13,9	0,0122	0,628	0,144	1,246	0,088	4,546	6,401	

n.d. = Donnée non-disponible

Annexe C: Données brutes des différents paramètres de qualité de l'eau mesurés dans l'eau de souterraine des piézomètres P3 et P9 du micro-bassin versant du Bras d'Henri lors des campagnes d'échantillonnage de 2006 à 2007, et ayant servi à la rédaction du chapitre 9 cette thèse.



Régime hydrologique	Piézomètre	Date	pH	T °C	OD	N-NO ₂ ⁻	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺ mg L ⁻¹	NT	PT	SO ₄ ²⁻
Étiage d'été	P3	2006-08-08	7,67	16,2	8,8	0,0000	27,055	0,232	23,240	0,000	22,127
		2006-08-10	7,62	19,7	9,1	0,0245	26,349	0,214	24,596	0,697	20,900
		2006-08-12	7,73	13,4	8,4	0,0012	27,139	0,048	25,702	0,930	22,052
		2006-08-14	7,82	15,8	9,4	0,0000	27,907	0,108	25,102	0,447	23,330
		2006-08-16	7,75	14,6	7,6	0,0000	26,420	0,159	26,396	0,433	21,389
		2006-08-18	7,70	14,5	7,5	0,0000	27,755	0,000	25,712	0,554	22,303
		2006-08-20	7,60	14,2	7,2	0,0000	27,603	0,061	27,426	0,341	22,437
		2006-08-22	7,69	16,0	7,2	0,0013	28,792	0,000	28,496	0,134	24,164
		2006-08-08	7,97	16,4	0,8	0,0000	0,008	0,063	0,035	0,058	14,584
	2006-08-10	7,88	10,6	2,8	0,0445	0,000	0,177	0,183	0,048	14,248	
	2006-08-12	7,99	10,5	1,0	0,0000	0,000	0,082	n.d.	0,000	13,848	
	2006-08-14	7,97	10,3	0,9	0,0000	0,000	0,098	n.d.	0,051	13,659	
	2006-08-16	8,01	10,4	1,6	0,0004	0,015	0,084	0,187	0,002	13,146	
	2006-08-18	7,96	15,3	1,0	0,0000	0,000	0,127	n.d.	0,055	12,988	
	2006-08-20	8,15	11,7	n.d.	0,0000	0,006	0,092	0,089	0,000	12,854	
	2006-08-22	8,02	10,1	0,8	0,0000	0,008	0,053	n.d.	0,114	12,894	
	2006-11-01	n.d.	n.d.	n.d.	0,0010	21,471	0,057	24,764	0,000	16,428	
	Recharge automnale	P3	2006-11-01	n.d.	7,3	6,1	0,0013	22,479	0,100	26,260	0,000
2006-11-05			7,74	9,6	7,8	0,0008	24,886	0,183	27,520	0,000	16,823
2006-11-07			7,72	10,9	7,7	0,0013	25,539	0,053	28,720	0,000	18,784
2006-11-09			7,70	9,7	6,8	0,0016	27,451	0,164	28,768	0,000	19,484
2006-11-11			7,64	8,0	12,9	0,0006	28,583	0,092	29,888	0,273	19,298
2006-11-01			n.d.	n.d.	0,8	0,0003	0,005	0,051	0,276	0,028	10,734
2006-11-03		n.d.	8,2	1,0	0,0002	0,000	0,000	0,124	0,026	11,069	
2006-11-05		8,05	8,8	0,8	0,0000	0,008	0,079	0,023	0,000	12,157	
2006-11-07		8,02	7,6	0,8	0,0003	0,000	0,061	0,072	0,000	11,783	
2006-11-09		7,63	7,7	1,6	0,0009	0,004	0,094	0,060	0,032	12,678	
2006-11-11		7,83	7,6	2,6	0,0000	0,000	0,088	0,108	0,000	13,875	
Fonte printanière		P3	2007-04-26	7,30	5,6	13,3	0,0193	26,198	0,053	26,948	0,381
	2007-04-28		7,80	4,3	12,2	0,0494	27,558	2,858	25,906	0,357	22,323
	2007-05-01		5,93	6,0	5,0	0,0112	33,030	0,178	26,391	0,186	25,940
	P9	2007-04-24	8,26	5,3	1,0	0,0000	0,000	0,119	0,000	0,052	11,702
		2007-04-26	8,30	6,3	2,3	0,0000	0,000	0,000	0,025	0,052	11,828
		2007-04-28	8,40	5,4	4,4	0,0000	0,014	0,000	0,002	0,054	11,867
		2007-05-01	8,22	6,5	4,1	0,0035	0,003	0,070	0,000	0,042	12,054

n.d. = Donnée non-disponible



Annexe D: Données brutes des différents paramètres de qualité de l'eau mesurés dans l'eau de résurgence des branches 15 et 14 du micro-bassin versant du Bras d'Henri lors des campagnes d'échantillonnage de l'étiage d'été et de la recharge automnale 2006, et ayant servi à la rédaction de chapitre 10 de cette thèse.



Régime hydrologique	Branche	Date	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	NT
			mg N L ⁻¹			
Étiage d'été	15	2006-08-08	0,0183	3,077	0,011	3,384
		2006-08-10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		2006-08-12	n.d.	n.d.	0,011	0,225
		2006-08-14	0,0171	1,641	0,009	2,841
		2006-08-16	0,0190	1,621	0,008	2,168
		2006-08-18	0,0260	1,748	0,006	3,090
		2006-08-20	0,0180	1,957	0,010	2,115
		2006-08-22	0,0142	2,240	0,008	2,197
	14	2006-08-08	0,0000	0,755	0,021	0,808
		2006-08-10	0,0170	0,871	0,031	1,011
		2006-08-12	0,0293	1,847	0,009	2,063
		2006-08-14	0,0363	2,352	0,013	2,052
		2006-08-16	0,0166	1,045	0,010	1,010
		2006-08-18	0,0183	1,145	0,019	0,951
2006-08-20		0,0177	1,055	0,008	0,946	
2006-08-22		0,0225	2,349	0,020	1,760	
Recharge automnale	15	2006-11-03	0,0477	1,182	0,188	2,953
		2006-11-05	0,0132	0,216	0,202	0,686
		2006-11-07	0,0054	0,119	0,046	0,326
		2006-11-09	0,0046	0,103	0,178	0,720
		2006-11-11	0,0037	0,112	0,011	0,407
	14	2006-11-03	0,0078	215,650	0,015	0,676
		2006-11-05	0,0269	119,239	0,040	0,512
		2006-11-07	0,0047	103,243	0,022	0,322
		2006-11-09	0,0053	111,929	0,003	0,374
		2006-11-11	0,0100	0,000	0,009	1,121

n.d. = Donnée non-disponible

