



HAL
open science

Devenir des micropolluants dans un filtre planté de roseaux traitant les eaux de ruissellement de voirie – Importance des communautés microbiennes

Julia Roux

► **To cite this version:**

Julia Roux. Devenir des micropolluants dans un filtre planté de roseaux traitant les eaux de ruissellement de voirie – Importance des communautés microbiennes. Sciences de l'environnement. UPEC UP12 - Université Paris-Est Créteil Val-de-Marne - Paris 12, 2024. Français. NNT: . tel-04538670

HAL Id: tel-04538670

<https://hal.u-pec.fr/tel-04538670v1>

Submitted on 9 Apr 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE DE DOCTORAT



Thèse de doctorat de l'Université Paris-Est Créteil (UPEC)

Ecole doctorale n°531, Sciences, Ingénierie et Environnement (SIE)

Spécialité sciences et techniques de l'environnement

Devenir des micropolluants dans un filtre planté de roseaux traitant les eaux de ruissellement de voirie – Importance des communautés microbiennes

Thèse CIFRE préparée au

Service technique de l'eau et de l'assainissement (STEA, Ville de Paris)

et au **Laboratoire Eau, Environnement et Systèmes Urbains (LEESU)**

Présentée par

Julia ROUX

Thèse soutenue à Créteil le 31 janvier 2024 devant le jury composé de :

M. Mathieu GAUTIER

Maître de conférences, INSA Lyon

M. Thierry LEBEAU

Professeur, Nantes Université

Mme. Béatrice BECHET

Directrice de recherche, Université Gustave Eiffel

M. Thierry HEULIN

Directeur de recherche, CNRS-CEA Cadarache

M. Noureddine BOUSSERRHINE

Professeur, Université Paris-Est Créteil

M. Martin SEIDL

Chercheur, École des Ponts ParisTech Champs-sur-Marne

Mme. Pascale NEVEU

Cheffe de projet, STEA Ville de Paris

Rapporteur

Rapporteur

Examinatrice

Examineur

Directeur de thèse

Co-directeur de thèse

Co-encadrante

A ma mère que j'aime tant,
Qui ne pourra jamais lire ce travail,
Mais qui aurait été fière de moi et de ce que j'ai pu accomplir ...
Ton amour m'a donné la force de continuer malgré les difficultés, merci maman ✨

REMERCIEMENTS

Préparer cette thèse a été une expérience extrêmement riche en apprentissages, expériences et rencontres. C'était un travail très solitaire mais en même temps riche en rencontres. Même si ce n'était pas de tout repos, ces trois années et demie passées au LEESU et à la Ville de Paris m'ont apporté tant de choses d'un point de vue personnel et professionnel, et à l'issue de tout cela, il est maintenant temps de remercier toutes ces personnes qui ont compté !

Tout d'abord, je souhaite adresser des remerciements chaleureux aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer mon travail de thèse. Merci à **Mathieu GAUTIER** et **Thierry LEBEAU** d'avoir accepté et pris le temps de lire mon manuscrit, pour juger son contenu. Merci également à **Béatrice BECHET** et **Thierry HEULIN** d'avoir été examinateurs lors de la soutenance et d'avoir enrichi la discussion scientifique. Merci à tous pour votre temps et votre engagement.

Puis, je remercie mes deux directeurs de thèse, **Noureddine BOUSSERRHINE** et **Martin SEIDL** pour m'avoir donné l'opportunité de travailler sur cette thèse et de m'avoir fait confiance jusqu'au bout. Noureddine, merci d'avoir cru en moi lors de mon stage de master, et merci d'avoir suivi cette thèse et de m'avoir encouragé à participer à des événements scientifiques. Merci pour ton écoute. Martin, merci pour tes remarques afin de toujours améliorer mes réflexions et traitement de données. Merci à vous pour ces relectures et merci Martin pour m'avoir aidé à synthétiser mes phrases, toujours trop longues ! Je remercie également **Pascale NEVEU**, ma co-encadrante côté Ville de Paris pour toutes les aides administratives et la coordination du projet. Tu as été un soutien surtout à distance, mais tu m'appelais très souvent pour voir si tout allait bien et je t'en remercie.

Mes remerciements vont également aux membres de mon comité de suivi de thèse, **Philippe BRANCHU** et **Wafa ACHOUAK** qui étaient présents chaque année pour faire le point sur l'avancée de mes recherches et de mon état par rapport à tout ça.

Je souhaite maintenant remercier la **Ville de Paris** et **l'ANRT** qui ont financièrement soutenu ma thèse. Merci à la Division de la Propreté et de l'Eau de m'avoir (courtement) accueilli, si je n'avais pas eu autant de travail de laboratoire, j'aurais pu rencontrer plus de personnes. Merci à **Paul KENNOUCHE**, qui a pris la succession temporaire de Pascale et qui m'a toujours répondu avec gentillesse. Merci à **l'équipe** chargé des prises de vues en drone de la Division Travaux et Environnement de la Ville de Paris d'être venu nous aider à filmer et photographier le site. Merci à **l'UPEC** de m'avoir accueilli sur son campus et à tout le personnel administratif qui a pu m'aider lors de problèmes divers (**Valérie SIMARD**, **Agnès MASSIAS**, **Isabelle MONDON**).

Merci au **LEESU** de m'avoir accueilli pendant ces quelques années. **Régis MOILLERON**, directeur du LEESU, mais également les collègues et amis du laboratoire avec qui j'ai eu la chance de travailler : Merci infiniment **Vanessa ALPHONSE** pour ta bonne humeur perpétuelle, ton écoute, ton implication, tes conseils pour les manip au labo, merci pour l'organisation des repas de fin d'année, d'anniversaire, de mariage ou juste des raclettes ! Ça a été un réel plaisir de travailler avec toi. Merci à toi aussi **Alexandre LIVET**, tes blagues nulles vont un peu me manquer, merci pour tes conseils au laboratoire, pour ton aide en biologie moléculaire, en chimie et surtout en mathématiques ! Merci à toi **Lila BOUDAHMANE** pour toute ton aide pour les analyses des polluants, j'ai appris beaucoup de choses grâce à toi et on a bien rigolé, merci pour tout. Merci également à **Emilie CAUPOS** pour ses conseils et relectures. Merci à **Chandirane PARTIBANE** pour les quelques analyses de phtalates réalisées avant que l'appareil de tombe en panne. Je remercie également **Marie-Christine GROMAIRE** qui posait toujours des questions pertinentes pour avancer dans la bonne direction, et qui était toujours disponible pour répondre à mes questions. Merci à **Mohamed SAAD** pour les analyses du carbone organique total de mes échantillons.

Merci également au iEES et particulièrement à **Stéphanie GIUSTI-MILLER** pour ton aide dans les dosages des activités enzymatiques en microplaques. Ta rigueur m'a permis de m'améliorer et ta gentillesse de me sentir à l'aise dans votre labo. Merci à **Xavier LAFFRAY** du CRRET pour m'avoir aidé à broyer mes échantillons de roseaux et à **Gilles CARPENTIER** pour m'avoir prêté le lecteur de microplaques pendant deux mois.

Je remercie également **Wafa ACHOUAK** et **Mohamed BARAKAT** pour m'avoir accueilli dans leur laboratoire CEA-LEMIRE à Cadarache le temps d'une journée pour me former à une discipline jusque-là inconnue : la diversité génétique. Merci Mohamed pour toute l'aide que vous m'avez apportée pour le traitement des séquences d'ADN, je n'aurais rien pu faire sans cela. Merci Wafa d'avoir pris le temps de relire l'article scientifique sur la biodégradation, qui contenait un grand volet génétique.

Un merci tout particulier aux deux stagiaires de master qui ont travaillé avec moi sur le volet biodégradation. Merci **Chloé RANCHOUX** et **Narimane CHIBANE** d'avoir été là, ça aurait été nettement moins sympathique de faire ces expérimentations sans vous ! Narimane nous avons passé beaucoup de temps ensemble, j'espère que tu réussiras à trouver une thèse qui te plaît et qui t'enrichira autant que moi !

Je souhaite remercier tous les partenaires du projet LIFE ADSORB avec qui je me suis bien entendue et qui étaient toujours disponibles lorsque j'avais besoin de renseignements. Au Cerema un grand merci à **Philippe BRANCHU**, **Cédric PAYET** et **David RAMIER**. A l'INRAE merci à **Giacomo GRASSI** et **Juliette FABURE**. Au bureau d'étude EcoBird merci à **Ania MORVANNOU**, **Stéphane TROESCH**. Au LEESU merci à **Marie-Christine GROMAIRE**, **Julie GOBERT** et **Cynthia CORROTO**.

J'aimerais maintenant remercier les autres membres du LEESU avec qui j'ai pu échanger et partager des moments conviviaux : **My-Dung JUSSELME**, **Clarisse BALLAND BOLOU-BI**, **Samir ABBAD**, **Marouane MKHININI**, merci pour vos conseils en microbiologie et votre bonne humeur ! Merci également **Laure GARRIGUE-ANTAR** de m'avoir toujours valorisée et soutenue quand je n'avais pas confiance en moi. Merci **Claudia LOUISON** de m'avoir toujours aidé pour la préparation des déplacements. Merci **Rachid DRIS** et **Angélique GOFFIN** pour votre bonne humeur et vos conseils pertinents. Je remercie également tous les doctorants qui ont partagé ce long travail avec moi : **Nadia**, **Fidji**, **Maxime**, **Paloma**, **Sadia** c'était un plaisir de passer ces années ensemble, **Andréa**, **Pierre**, **Christelle**, **Nina**, **Robin**, **Max**, **Nadège**, **Manel**, **Julien**, **Lina**, **Antoine**, **Lamyae** c'était un plaisir de faire un bout de chemin ensemble ! J'en oublie certainement mais vous êtes tellement nombreux... ! Merci pour la dynamique instaurée dans ce labo, avec les soirées jeux de sociétés, les gâteaux, les raclettes party, le Secret Santa, le badminton et les apéros du soir !

Merci également à **Sophie FRECHAULT**, **Nicolas MAZURAS**, **Benoit VALLEE** et **Davy VERSACE** pour votre bonne humeur et ces repas partagés ensemble. Merci également au personnel de l'atelier de l'UPEC : Guy, Stéphane, Yannick, Lucien, Thomas, Rudy, Kari. Vous m'avez bien aidé lors de la mise en place des essais de biodégradation, pour des outils, de la découpe, des conseils et des prêts de matériel. C'était toujours une « pause » agréable que de venir vous voir. Merci également à Nathalie de m'avoir prêté sa grosse balance de courrier pour que je puisse peser mes énormes sacs de roseaux toutes les semaines pendant plus de trois mois.

Merci à toutes les personnes que j'ai pu rencontrer lors de mes participations à des **conférences** : doctorants, post-doctorants, chercheurs, curieux, avec qui j'ai passé de très bons moments. Un grand merci à tous mes **professeurs** que j'ai eu en licence de géologie qui m'ont transmis leur passion pour la connaissance de ce monde, en master 1 SGS qui m'ont donné envie de continuer plus loin dans le domaine de l'environnement et en master 2 GSSE qui m'ont conforté dans mon choix de l'étude des sols.

Bien évidemment, je remercie ma **famille** sans qui rien n'aura été possible. Merci **papa** pour ta confiance en moi indéniabale, pour ton amour et pour ta relecture de quelques parties de ce manuscrit ! Merci **Hugo** de m'avoir soutenue et d'être toujours à l'écoute. Je vous aime fort et je vous remercie pour tout cet amour dans lequel j'ai baigné ! Je remercie évidemment ma **mère**, qui m'a toujours soutenue et même si c'était évidemment son rôle de mère, elle l'a toujours fait avec légèreté et douceur. Sa disparition a été très dure mais m'a permis de grandir et de l'avoir toujours dans mon cœur. J'essaye de prendre confiance en moi au travers du regard que tu portais sur moi, mais il y a encore un peu de chemin. Merci à mes **oncles et tantes** (Sophie, Valérie, Olivier, Gilles, Catherine, Paulo, Lionel, Hugues), mes **cousins** (Thomas, Sierra, Bastien, Clémence, Margot, Victorine, Léo, Tom, Noa) et mes deux **grands-mères** (Mamicou et Mamidedou) qui m'ont soutenu également tout au long de cette thèse. Je ne vous oublie par mes grands-pères (Papou et Papichampignon). Enfin un grand merci à **Feuille**, toujours souriante et dynamique, qui m'a permis de m'évader pendant ma thèse grâce à de nombreux conseils de romans et de sorties culturelles !

Un grand merci à mes **amis** de toujours : **Chanaël, Marie, Jessy, Chloé, Lorraine, Luca, Charlotte, Fabien, Rayen, Milan, Carla, Antoine, Elisa, Arthur, Sara, Louise, Juliette, Nicolas, Camille, Fatima, Ibrahim** (et le petit **Daniel** !). La vie est plus belle à vos côtés, merci d'avoir été là pour me faire sortir de ma thèse. Je remercie particulièrement Chanaël, qui a su me rassurer lors de mes moments de doutes à la fin de la thèse, je t'aime, deviens la plus belle des actrices ! Mes remerciements vont également à **Hortense**, mon ostéopathe sans qui mon corps serait tombé en morceau très vite ! **Eloïse**, on s'est d'abord rencontrées aux JDHU en distanciel (merci Covid) puis à l'ICWS et nous nous sommes tout de suite très bien entendues ! Je suis très heureuse que cette thèse t'ai mise sur mon chemin et merci pour ton soutien à la fin de ma thèse, tu me comprenais et m'encourageait parfaitement.

Je ne vous oublie pas, merci à vous **lecteurs** d'avoir pris le temps de lire ce manuscrit, il continue d'exister grâce à vous.

Tom, presque dix ans que nous parcourons la vie ensemble, merci d'être présent, merci pour tout le soutien que tu as pu m'apporter, surtout ces derniers mois. Ça n'a pas dû être toujours facile, mais tu as continué de m'écouter, de croire en moi et tu m'as soutenue et apaisée quand tout paraissait trop dur pour continuer. Tu étais aussi présent pour les moments joyeux évidemment ! Et merci pour ta participation à ce manuscrit en m'aidant à bien mettre en page ma bibliographie dans Zotero ! Merci pour ton amour, ce travail n'aurait pas été pareil sans toi. Je t'aime et te remercie de tout mon cœur, rien ne pourrait exprimer tout l'amour que j'éprouve pour toi. Que la vie continue 😊 .

RESUME

Cette thèse eut comme objet d'étude deux filtres plantés de roseaux (FPR) dans le Bois de Boulogne à Paris, construits en 2020 dans le cadre du projet LIFE-ADSORB, pour le traitement du ruissellement du boulevard périphérique parisien. Les travaux de thèse ont exploré le devenir des micropolluants organiques (MPO) et métalliques (ETM) et les communautés microbiennes se développant dans les FPR, pour perfectionner, en travers de la modélisation, le design de ce type de filtre dans le futur. Pour améliorer le traitement des polluants dissous, une couche d'un substrat innovant, le Rainclean (Rc), a été ajoutée dans l'un des deux FPR. L'approche méthodologique inclut d'une part le suivi *in-situ* de l'évolution spatio-temporelle des FPR, afin de caractériser la dynamique d'accumulation de sédiments, ETM et MPO, et la colonisation des communautés microbiennes sur deux ans. D'autre part, des essais de biodégradation en colonnes de MPO émergents sélectionnés (bisphénol A BPA, 4-nonylphénol 4-NP et 4-octylphénol 4-OP) ont été réalisés pour alimenter un modèle des FPR et comprendre le rôle des communautés bactériennes.

L'étude *in-situ* a révélé une forte hétérogénéité temporelle et spatiale (horizontale et verticale) des FPR, attribuable à une charge hétérogène d'eaux contaminées, plus importante en amont. L'accumulation de sédiments et de micropolluants particulaires et hydrophobes (Cd, Cu, Pb, Zn, 4-NP, hydrocarbures aromatiques polycycliques et indices hydrocarbures) était constatée principalement en surface et en amont des FPR. Les ETM plus mobiles (Ni, Cr) étaient plutôt accumulés en aval et en profondeur, influencés par des apports des eaux claires, qui remobilisent les ETM. Les MPO présentaient une accumulation plus faible, avec un bilan négatif sur deux ans, excepté pour le 4-NP, indiquant des processus de dégradation microbienne. Le sédiment semble adsorber les MPO lié à ses forts taux de carbone organique. Le Rc n'a pas révélé une efficacité accrue dans l'accumulation des micropolluants à l'échelle des FPR, plus de temps semble nécessaire pour conclure sur son efficacité. L'alimentation des FPR en eaux claires a significativement impacté les processus de rétention et d'élimination des ETM, l'impact était moins visible pour les MPO. Le faucardage de la végétation a un faible impact sur le flux sortant des micropolluants, ne représentant que quelques pourcents du stock au maximum. Les processus de rétention dominants dans les FPR étaient ainsi la sédimentation, la filtration, et l'adsorption (moins quantifiable pour les ETM). Les processus d'élimination des MPO étaient la biodégradation, l'absorption par les plantes et la remobilisation par les eaux claires tandis que pour les ETM, la remobilisation puis l'absorption par les plantes étaient les principaux processus.

Les apports hétérogènes ont influencé le développement des communautés microbiennes, surtout dans le sable de surface. En amont, les communautés étaient moins nombreuses ou similaires à l'aval, et présentaient un potentiel fonctionnel et une diversité génétique réduits ; elles étaient cependant métaboliquement plus actives, liées aux concentrations plus élevées de micropolluants, carbone organique et azote. Ces résultats indiquent une spécialisation des communautés microbiennes au fil du temps, en corrélation avec les apports d'eaux de ruissellement, particulièrement dans le sable de surface. Le sédiment se distinguait comme le solide le plus différencié en termes de communautés et d'activités microbiennes. La filtration des matières en suspension par le sable de surface a modifié la structure et l'activité des communautés, les rapprochant progressivement de celles du sédiment avec le temps. Enfin, l'activité microbienne était concentrée dans les premiers cm des FPR, dans le sédiment et sable de surface.

Les essais de biodégradation ont révélé que l'activité microbienne était le principal facteur de dégradation des MPO dans le sable, Rc et sédiment. Le BPA était le composé le plus rapidement dégradé avec un temps de demi-vie d'environ 3 jours, le 4-NP et 4-OP présentaient des vitesses similaires. La végétation a positivement influencé la biodégradation, augmentant les pourcentages finaux de dégradation pour le sable et Rc et réduisant les temps de demi-vie de dégradation des MPO dans le sable. Les différences physico-chimiques entre les substrats ont conduit à des communautés microbiennes distinctes, toutes capables de dégrader efficacement chaque MPO avec une faible modification de leur structure. La présence de végétation a plus fortement impacté la structure des communautés. Bien que les résultats suggèrent un faible risque d'accumulation des MPO dans les FPR en raison de leur dégradation, les sédiments et le Rc non planté présentaient des teneurs résiduelles élevées, indiquant un risque d'accumulation à long terme qui nécessite une surveillance continue.

Mots-clés : Filtre planté de roseaux, micropolluants, ruissellement urbain, biodégradation, diversité microbienne, activité microbienne.

ABSTRACT

This thesis studied two reed filters (RBF) in the Bois de Boulogne in Paris, built in 2020 as part of the LIFE-ADSORB project, to treat runoff from the Paris ring road. The thesis work explored the fate of organic (OMP) and metallic (TME) micropollutants and the microbial communities developing in RBF, to perfect, through modeling, the design of this type of filter in the future. To improve the treatment of dissolved pollutants, a layer of an innovative substrate, Rainclean (Rc), was added to one RBF. The methodological approach includes *in-situ* monitoring of the spatio-temporal evolution of the RBFs, to characterize the dynamics of sediment, TME and OMP accumulation and the colonization of microbial communities over two years. In addition, biodegradation experiments of selected emerging OMP (bisphenol A BPA, 4-nonylphenol 4-NP and 4-octylphenol 4-OP) were carried out to feed an RBF model and understand the role of bacterial communities.

The *in-situ* study revealed strong temporal and spatial (horizontal and vertical) heterogeneity of RBF, attributable to heterogeneous load of contaminated water, greater upstream. Accumulation of sediments and particulate and hydrophobic micropollutants (Cd, Cu, Pb, Zn, 4-NP, polycyclic aromatic hydrocarbons and hydrocarbon indices) was mainly observed at the surface and upstream of RBF. More mobile TME (Ni, Cr) tended to accumulate downstream and at depth, influenced by inflows of clear water, which remobilize TME. OMP showed less accumulation, with a negative balance over two years, except for 4-NP, indicating microbial degradation processes. Sediment seems to adsorb OMP due to its high organic carbon content. The Rc did not reveal an increased efficiency in the accumulation of micropollutants at the RBF scale, more time seems necessary to conclude on its efficiency. Feeding clear water to the RBF had a significant impact on TME retention and elimination processes, while the impact was less visible for OMP. Vegetation cutting had little impact on the outflow of micropollutants, accounting for only a few percent of the stock. The dominant retention processes in RBF were sedimentation, filtration and adsorption (less visible for TME). Removal processes for OMP were biodegradation, plant uptake and remobilization by clear water, while for TME, remobilization followed by plant uptake were the main processes.

Heterogeneous inputs also influenced the development of microbial communities, especially in the surface sand. Upstream, communities were less numerous or similar to downstream, with reduced functional potential and genetic diversity; they were, however, metabolically more active, linked to higher concentrations of micropollutants, organic carbon and nitrogen. These results indicate a specialization of microbial communities over time, correlated with runoff inputs, particularly in the surface sand. Sediment was found to be the most differentiated solid in terms of microbial communities and activities. Filtration of suspended matter by the surface sand modified community structure and activity, gradually bringing them closer to those of the sediment over time. Finally, microbial activity was concentrated in the first few cm of the RBF, in the sediment and in the surface sand.

Biodegradation experiments revealed that microbial activity was the main factor in OMP degradation in sand, Rc and sediment. BPA was the most rapidly degraded compound, with a half-life of around 3 days, while 4-NP and 4-OP showed similar rates. Vegetation positively influenced biodegradation, increasing final degradation percentages for sand and Rc and reducing degradation half-lives for OMP in sand. The physico-chemical differences between the solids led to distinct microbial communities, all capable of efficiently degrading each OMP with little modification of their structure. The presence of vegetation had a greater impact on community structure. Although the results suggest a low risk of OMP accumulation in RBF due to their biodegradation, sediments and unplanted Rc showed high residual levels, indicating a long-term accumulation risk that requires continuous monitoring.

Keywords: Stormwater reed bed filter, micropollutants, biodegradation, microbial diversity, microbial activity.

LISTE DES COMMUNICATIONS

Conférences internationales :

Présentations orales

J. Roux, M. Seidl, P. Branchu, M.C. Gromaire, P. Neveu, L. Boudahmane, E. Caupos, V. Alphonse, N. Bousserhine (2022). Accumulation of organic and inorganic micropollutants over time and space in a constructed wetland for urban runoff. 17th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control (ICWS), 6-10 novembre, Lyon.

Poster

J. Roux, N. Chibane, M. Seidl, P. Neveu, W. Achouak, M. Barakat, L. Boudahmane, E. Caupos, V. Alphonse, A. Livet, N. Bousserhine (2023). Biodegradation kinetics of organic micropollutants in planted or unplanted columns simulating an innovative reed bed filter treating runoff water. Goldschmidt, 9-14 juillet, Lyon.

Conférences nationales :

Présentations orales

J. Roux, M. Seidl, P. Neveu, N. Bousserhine (2020). Devenir des micropolluants issus du trafic routier dans un filtre planté de roseaux dédié à la gestion des eaux de ruissellement - Importance des communautés microbiennes. Journées Doctorales en Hydrologie Urbaines (JDHU), 26-27 mai, en ligne.

J. Roux, M. Seidl, N. Bousserhine, P. Branchu, M.C. Gromaire, P. Neveu (2023). Évolution des micropolluants dans un filtre planté pour le traitement de ruissellement de voirie à Paris. Novatech, 3-7 juillet, Lyon.

Communications locales :

J. Roux, M. Seidl, P. Neveu, N. Bousserhine (2021). Devenir des micropolluants issus du trafic routier dans un filtre planté de roseaux traitant des eaux de ruissellement. LEESURIALES, séminaire interne au laboratoire, 15 mars, Créteil.

J. Roux, M. Seidl, P. Neveu, N. Bousserhine (2023). Devenir des micropolluants issus du trafic routier dans un filtre planté de roseaux traitant les eaux de ruissellement – Importance des communautés microbiennes. LEESURIALES, séminaire interne au laboratoire, 22-23 juillet, Créteil.

J. Roux, M. Seidl, P. Neveu, P. Branchu, MC. Gromaire, N. Bousserhine (2022). Devenir des micropolluants (MPs) dans le filtre planté de roseaux. Comité technique du projet Life Adsrob, 30 novembre, Paris

J. Roux, M. Seidl, P. Neveu, P. Branchu, MC. Gromaire, N. Bousserhine (2023). Devenir des micropolluants (MPs) dans le filtre planté de roseaux. Comité technique du projet Life Adsrob, 23 novembre, Paris

J. Roux, M. Seidl, P. Neveu, N. Bousserhine (2021). Devenir des micropolluants issus du trafic routier dans un filtre planté de roseaux traitant des eaux de ruissellement avec l'importance des communautés microbiennes. Séminaire des doctorants Cifre de la Ville de Paris, 8 décembre, Paris.

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|---|------|
| REMERCIEMENTS | IV |
| RESUME | VII |
| ABSTRACT | VIII |
| LISTE DES COMMUNICATIONS | IX |
| LISTE DES ABREVIATIONS | XII |
| LISTE DES FIGURES | XIII |
| LISTE DES TABLEAUX | XVI |
| | |
| INTRODUCTION | 1 |
| | |
| PARTIE 1 - ETAT DE L'ART | 5 |
| I - Contamination des eaux de ruissellement en milieu urbain | 6 |
| I-1. Les impacts de l'urbanisation sur les eaux de ruissellement | 6 |
| I-2. Types et sources de polluants en milieu urbain | 7 |
| I-3. Cadre réglementaire des milieux aquatiques | 9 |
| I-4. Sélection des micropolluants à étudier | 10 |
| I-5. Les éléments trace métalliques | 12 |
| I-6. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques | 14 |
| I-7. Les alkylphénols et le bisphénol-A | 18 |
| I-8. Les phtalates (PAE) | 22 |
| I-9. Conclusion sur les micropolluants véhiculés par les eaux de ruissellement de voirie | 23 |
| | |
| II - Filtres plantés de roseaux pour le traitement de la contamination du ruissellement urbain | 24 |
| II-1. La gestion à la source des eaux pluviales | 24 |
| II-2. Les différents ouvrages de gestion des eaux pluviales | 25 |
| II-3. Les filtres plantés de roseaux pour le traitement des eaux de ruissellement | 26 |
| II-4. Devenir des micropolluants étudiés retenus dans des filtres plantés de roseaux | 37 |
| II-5. Impact de l'environnement sur l'efficacité des FPR | 51 |
| II-6. Amélioration des capacités épuratoires des FPR | 51 |
| II-7. Législation sur les sols et déchets | 52 |
| II-8. Conclusion sur les FPR pour le traitement des eaux de ruissellement urbain | 56 |
| | |
| III - Rôles de l'activité biologique des filtres plantés de roseaux | 57 |
| III-1. Rôles de la végétation dans les filtres plantés de roseaux | 57 |
| III-2. Rôles des microorganismes dans les filtres plantés de roseaux | 66 |
| III-3. Conclusion sur les rôles de la végétation et des microorganismes | 96 |
| | |
| PARTIE 2 - MATERIEL ET METHODES | 97 |
| IV - Présentation du site d'étude | 98 |
| IV-1. Le bassin versant et les eaux captées | 98 |
| IV-2. L'ouvrage de gestion des eaux pluviales | 99 |
| IV-3. Le filtre planté de roseaux | 100 |
| IV-4. Alimentation en eau du filtre | 102 |
| IV-5. Evolution visuelle du filtre dans le temps | 104 |
| | |
| V - Campagnes de prélèvement | 106 |
| V-1. Méthodologie de prélèvement des substrats | 106 |
| V-2. Prélèvements complémentaires de substrats | 112 |
| V-3. Prélèvements de <i>Phragmites australis</i> | 113 |
| V-4. Résumé des différents échantillons prélevés dans le filtre planté de roseaux | 114 |
| | |
| VI - Préparation des échantillons | 114 |
| VI-1. Echantillons composites des substrats | 114 |
| VI-2. Echantillons complémentaires de substrats | 116 |
| VI-3. Echantillons pour les essais de biodégradation | 116 |
| VI-4. Echantillons de <i>Phragmites australis</i> | 116 |

| | |
|---|-----|
| VII - Analyses réalisées sur les substrats | 117 |
| VII-1. Analyses des propriétés physico-chimiques | 117 |
| VII-2. Analyses des micropolluants | 119 |
| VII-3. Analyses microbiologiques et biochimiques | 129 |
| VII-4. Bilan des analyses réalisées sur les substrats | 140 |
| VIII - Analyses réalisées sur les végétaux | 141 |
| VIII-1. Mesure de la masse totale et analyse des micropolluants | 141 |
| VIII-2. Bilan des analyses réalisées sur les végétaux | 142 |
| IX - Essais de biodégradation des micropolluants organiques | 143 |
| IX-1. Mise en place du dispositif expérimental | 143 |
| IX-2. Incubation des colonnes | 148 |
| IX-3. Prélèvement et préparation des échantillons | 149 |
| IX-4. Analyses réalisées sur les substrats | 150 |
| IX-5. Récapitulatif de la méthodologie des essais de biodégradation | 151 |
| IX-6. Modélisation des cinétiques de dégradation | 152 |
| X - Traitements finaux des données | 155 |
| X-1. Accumulation de sédiment et de micropolluants dans le filtre planté de roseaux | 155 |
| X-2. Traitements statistiques | 162 |
| PARTIE 3 - RESULTATS ET DISCUSSION | 163 |
| XI - Evolution spatio-temporelle des filtres : accumulation de micropolluants et colonisation des filtres par les microorganismes | 164 |
| XI.1. Caractérisation et évolution des propriétés physico-chimiques des substrats et sédiments | 164 |
| XI.2. Dynamique des micropolluants organiques et métalliques dans les substrats et sédiments | 173 |
| XI.3. Micropolluants dans la biomasse aérienne des <i>P. australis</i> | 208 |
| XI.4. Caractérisation et évolution des communautés microbiennes des substrats et sédiments | 214 |
| XI.5. Relation entre les paramètres mesurés dans les substrats des FPR | 248 |
| XI.6. Conclusion du chapitre | 251 |
| XII - Evaluation de la biodégradation de micropolluants organiques émergents au laboratoire : essais de biodégradation en colonnes | 254 |
| XII.1. Introduction | 256 |
| XII.2. Materials and methods | 258 |
| XII.3. Results | 263 |
| XII.4. Discussion | 273 |
| XII.5. Conclusion | 281 |
| XII.6. References | 282 |
| XII.7. Supplementary Data | 282 |
| CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES | 290 |
| XIII - Rappel des objectifs et de la méthodologie | 290 |
| XIV - Conclusions scientifiques et opérationnelles | 291 |
| XV - Limites des travaux de thèse | 299 |
| XVI - Perspectives de recherche et opérationnelle | 299 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 303 |
| ANNEXES | 328 |

LISTE DES ABREVIATIONS

| Abréviation | Nom |
|---------------------|--|
| 4-NP | 4-Nonylphénol |
| 4-OP | 4-tert-Octylphénol |
| A | Anthracène |
| Acen | Acénaphène |
| ACP | Analyse en composante principale |
| Acyl | Acénaphylène |
| A-glu | α -glucosidase |
| AP | Alkylphénol |
| APnEO | Alkylphénol polyéthoxylé |
| AWCD | Average Well Colour Development (développement moyen de la coloration des puits) |
| BaA | Benzo[a]anthracène |
| BaP | Benzo[a]pyrène |
| BbF | Benzo[b]fluoranthène |
| B-glu | β -glucosidase |
| BkF | Benzo[k]fluoranthène |
| BPA | Bisphénol-A |
| BPer | Benzo[g,h,i]pérylène |
| C/N | Rapport des teneurs en carbone et en azote |
| CaCO ₃ | Carbonate de calcium |
| Cd | Cadmium |
| CEC | Capacité d'échange cationique |
| Chry | Chrysène |
| Corg | Carbone organique total |
| Cr | Chrome |
| Cu | Cuivre |
| DahA | Dibenzo[a,h]anthracène |
| DCE | Directive Cadre sur l'Eau |
| DCM | Dichlorométhane |
| DEHP | Bis(2-ethylhexyl) phtalate |
| DesHy | Déshydrogénase |
| DBP | Dibutyle phtalate |
| DEP | Diethyl phtalate |
| DiBP | Di-isobutyl phtalate |
| DMP | Diméthyl phtalate |
| DNP | Dinonyl phtalate |
| DO | Déversoir d'orage |
| DT50 | Temps de demi-vie |
| ESI | ElectroSpray Ionization (Ionisation par électronébulisation) |
| EtAce | Acétate d'éthyle |
| ETM | Elément trace métallique |
| F | Fluorène |
| FBC | Facteur de bioconcentration |
| Fluo | Fluoranthène |
| FOMC | First-order multi-compartment (cinétique de compartiment multiple de premier ordre) |
| FPR | Filtre planté de roseaux |
| FPR-H | Filtre planté de roseaux à écoulement horizontal |
| FPR-V | Filtre planté de roseaux à écoulement vertical |
| FR | Filtre avec Rainclean innovant |
| FS | Filtre à sable traditionnel |
| GC-MS | Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse |
| H ₂ O-UP | Eau ultra pure |
| HAP | Hydrocarbure aromatique polycyclique |
| HC | Hydrocarbure |
| HFDA | Hydrolyse de la fluorescéine diacétate |
| HS et MHS | Hockey-Stick (cinétique biphasique) simple et modifiée |
| ICP-AES ou -MS | Spectrométrie à plasma à couplage inductif (AES) ou Spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif (MS) |

| | |
|---------------------|---|
| IP | Indenof[1,2,3-cd]pyrène |
| k | Constante de dégradation |
| K _d | Coefficient d'adsorption |
| K _h | Constante de Henry |
| K _{oc} | Coefficient de partage carbone organique/eau |
| K _{ow} | Coefficient de partage octanol/eau |
| KW | Test statistique de Kruskal-Wallis |
| LC-MS | Chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre de masse |
| LQ | Limite de quantification |
| MeOH | Méthanol |
| MES | Matière en suspension |
| MP | Micropolluant |
| MPO | Micropolluant organique |
| Nap | Naphtalène |
| NGF | Nivellement général de la France |
| Ni | Nickel |
| NP1EC | Nonylphénol monocarboxylé |
| NP1EO | Nonylphénol monoéthoxylé |
| NP2EO | Nonylphénol diéthoxylé |
| NPnEO | Ethoxylates de nonylphénol |
| NPP | Nombre le plus probable (abondance microbienne) |
| NPP-B | Abondance bactérienne |
| NPP-C | Abondance fongique |
| NQE CMA | Norme de qualité environnementale - Concentration maximale admissible |
| NQE-MA | Norme de qualité environnementale - Moyenne annuelle |
| OGEP | Ouvrage de gestion des eaux pluviales |
| OP1EO | Octylphénol monoéthoxylé |
| OP2EO | Octylphénol diéthoxylé |
| OPnEO | Ethoxylates d'octylphénol |
| <i>P. australis</i> | <i>Phragmites australis</i> |
| PAE | Phtalate |
| Pb | Plomb |
| PCoA | Analyse des coordonnées principales |
| Ph5 | Phosphatase acide |
| Ph9 | Phosphatase basique |
| Phen | Phénanthrène |
| PNP | 4-nitrophényl |
| ppb | Partie par milliard (µg/kg par exemple) |
| ppm | Partie par million (mg/kg par exemple) |
| PSM | Poste de sécurité microbiologique |
| P _{vap} | Pression de vapeur |
| Pyr | Pyrène |
| Rc | Rainclean |
| RUTP | Rejet urbain de temps de pluie |
| Sdt | Sédiment |
| SFO | Single First-Order (cinétique de premier ordre) |
| Sm | Sable moyen |
| Sp | Sable profond |
| Ss | Sable de surface |
| STEP | Station d'épuration des eaux usées |
| S _w | Solubilité |
| T0 | Campagne de prélèvement initiale |
| T1 | Campagne de prélèvement un an plus tard |
| T2 | Campagne de prélèvement deux ans plus tard |
| UPLC-MS-MS | Chromatographie liquide ultra performance coupée à un spectromètre de masse en tandem |
| ZHA | Zone humide artificielle |
| Zn | Zinc |

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|-----|
| Figure 1.1 : Relation entre la surface imperméable et le volume de ruissellement. | 6 |
| Figure 1.2 : Les différentes sources de contaminants dans les eaux de ruissellement en ville. | 8 |
| Figure 1.3 : Structure des 16 HAP prioritaires (et leurs abréviations). | 14 |
| Figure 1.4 : Structure des alkylphénols et du bisphénol-A. | 18 |
| Figure 1.5 : Structure des phtalates. | 22 |
| Figure 1.6 : Possible évolution du paradigme de la gestion des eaux en ville. | 25 |
| Figure 1.7 : Classification des zones humides artificielles, avec les termes en anglais et en français. | 27 |
| Figure 1.8 : Nombre d'articles publiés dans le monde entre 1975 et 2023 traitants de zones humides artificielles (A) et de zones humides artificielles pour le traitement des eaux de ruissellement (B). | 28 |
| Figure 1.9 : Coupe schématique d'un filtre planté de roseaux à écoulement vertical. | 30 |
| Figure 1.10 : Synthèse des différents processus de rétention, d'élimination et de source de ETM (A) et de MPO (B) dans un sol, substrat ou sédiment. | 42 |
| Figure 1.11 : Exemple de la distribution verticale et horizontale du Zn. | 47 |
| Figure 1.12 : Exemple de la distribution verticale de la somme de 13 HAP (profil) dans plusieurs OGEP. | 50 |
| Figure 1.13 : Les différents facteurs affectant les communautés microbiennes dans les sols/substrats pollués. . | 76 |
| Figure 1.14 : Les différentes étapes de biodégradation des alkylphénols éthoxylés. | 83 |
| Figure 1.15 : Relation entre les valeurs de DT50 mesurées et les teneurs utilisées dans les études, en sélectionnant toutes les références (A) ou pour celles ayant utilisé des teneurs supérieures à 50 mg/kg (B). | 84 |
| Figure 1.16 : Mécanismes conduisant à la biodégradation du Bisphénol A. | 89 |
| | |
| Figure 2.1 : Situation globale du site d'étude. | 98 |
| Figure 2.2 : Chemin emprunté par les eaux de ruissellement selon six étapes. | 99 |
| Figure 2.3 : Photographies de la sortie des eaux de l'ouvrage traitées vers la mare Saint-James. | 100 |
| Figure 2.4 : Le filtre planté de roseaux vu de haut (drone) en hiver (A) et en été (B). | 100 |
| Figure 2.5 : Schéma du filtre planté de roseaux vu en coupe. | 101 |
| Figure 2.6 : Principe du fonctionnement hydraulique du filtre. | 103 |
| Figure 2.7 : Photographies de l'évolution du FPR dans le temps, prises à chaque fois de l'amont en regardant vers l'aval. | 105 |
| Figure 2.8 : Photographies de l'évolution de l'état de surface du filtre selon la localisation horizontale (amont, centre et aval). | 107 |
| Figure 2.9 : Carte de l'évolution du zonage du filtre (amont-centre-aval) entre les trois campagnes de prélèvement, T0 (2020), T1 (2021) et T2 (2022). | 107 |
| Figure 2.10 : Cartes de la localisation des points de prélèvement des échantillons de substrats au cours des différentes campagnes de prélèvement. | 108 |
| Figure 2.11 : Photographies du carottier et des carottes réalisées dans les deux filtres. | 109 |
| Figure 2.12 : Schéma du principe de réalisation des échantillons composites dans une zone. | 110 |
| Figure 2.13 : Les différents types de substrats récupérés sur site. | 111 |
| Figure 2.14 : Carte des prélèvements des sédiments en amont des FPR (points noirs) pour la réalisation de leur cartographie fine. | 113 |
| Figure 2.15 : Prélèvements des parties aériennes de <i>P. australis</i> réalisés en mars 2023. | 114 |
| Figure 2.16 : Photographie du séchage des échantillons. | 116 |
| Figure 2.17 : Les différentes étapes d'extraction et purification des échantillons pour l'analyse des PAE, alkylphénols et BPA. | 123 |
| Figure 2.18 : L'UPLC-MS-MS utilisée lors de l'analyse des alkylphénols et bisphénol-A. | 124 |
| Figure 2.19 : Les trois axes d'étude des communautés microbiennes dans les échantillons composites. | 129 |
| Figure 2.20 : Plan de plaque pour l'étude du NPP de bactéries ou de champignons (A), et exemple de résultat obtenu après 3 jours d'incubation (bactéries) (B). | 131 |
| Figure 2.21 : La microplaque BIOLÓG Ecoplates utilisée. | 136 |
| Figure 2.22 : Appareil utilisé pour réaliser l'électrophorèse (A) et exemple de résultat d'électrophorèse (B). | 138 |
| Figure 2.23 : Exemple de raréfaction des séquences obtenues, avec saturation de la diversité. | 140 |
| Figure 2.24 : Les différents substrats et modalités mis en place selon le temps. | 144 |
| Figure 2.25 : Schémas du dispositif expérimental. | 145 |
| Figure 2.26 : Nettoyage du système racinaire des <i>P. australis</i> | 146 |
| Figure 2.27 : Montage des colonnes. | 147 |
| Figure 2.28 : Lancement de l'incubation des colonnes : contamination et incubation. | 149 |
| Figure 2.29 : Destruction des colonnes. | 150 |
| Figure 2.30 : Récapitulatif de la méthodologie mise en place pour les essais de biodégradation. | 151 |
| Figure 2.31 : Exemple de modélisation de la cinétique du BPA dans le Rainclean de l'essai non planté avec les 3 modèles sélectionnés. | 153 |

| | |
|---|-----|
| Figure 2.32 : Exemple de mise en évidence des valeurs aberrantes dans la cinétique du 4-NP dans le Rainclean planté. | 154 |
| Figure 2.33 : Principe de l'interpolation par pondération par l'inverse de la distance basée sur la distance pondérée d'un jeu d'échantillons. | 155 |
| Figure 2.34 : Méthodologie utilisée pour rapporter les masses totales d'une zone (Am : amont ; C : centre ; Av : aval) du temps TX-1 à la surface du temps Tx, afin de pouvoir comparer les masses aux deux temps selon une même surface. | 159 |
| | |
| Figure 3.1 : Evolution de la granulométrie des substrats étudiés selon le temps et l'espace dans le filtre FS (A) et le filtre FR (B). | 166 |
| Figure 3.2 : Evolution des teneurs en carbone organique accumulées (g/kg) dans les différents substrats. | 168 |
| Figure 3.3 : Clustering hiérarchique obtenu çà l'issue de l'ACP (Annexe 3 2), regroupant les échantillons de sable (de surface et profond) selon leurs propriétés physico-chimiques. | 170 |
| Figure 3.4 : Analyse en Composante Principale (ACP) des différents échantillons lors de la campagne T2. | 170 |
| Figure 3.5 : Mesures d'épaisseurs (cm) réalisées lors de la cartographie fine du sédiment dans FS (A) et FR (B) selon la distance à la zone d'arrivée d'eau. | 171 |
| Figure 3.6 : Interpolation IDW de l'épaisseur (cm) du sédiment dans la zone amont des deux filtres, au temps T1 (A) et T2 (B). | 172 |
| Figure 3.7 : Evolution des teneurs en Zn (mg/kg) dans le sable de surface selon les trois campagnes de prélèvement et les zones. | 175 |
| Figure 3.8 : Cartographie des teneurs (mg/kg) en ETM (Cu, Pb et Zn) dans le sédiment en amont du filtre FS et FR, lors des campagnes T1 (en haut) et T2 (en bas). | 179 |
| Figure 3.9 : Accumulation volumique (g/m ³ /an) des différents métaux entre T1 et T2, pour les différentes couches constituant les filtres FS (orange) et FR (bleu). | 184 |
| Figure 3.10 : Accumulation surfacique (g/m ² /an) des différents métaux entre T1 et T2 pour les différentes zones (amont, centre et aval), qui regroupent chacune l'ensemble des substrats présents. | 187 |
| Figure 3.11 : Accumulation surfacique (g/m ² /an) des différents métaux entre T1 et T2 pour l'ensemble des deux filtre FS (orange) et FR (bleu). | 189 |
| Figure 3.12 : Accumulation volumique (mg/m ³ /an) des différents MPO émergents les plus concentrés (BPA- 4-OP et 4-NP) entre T1 et T2, pour les différents substrats, selon le filtre FS (orange) et FR (bleu). | 198 |
| Figure 3.13 : Accumulation surfacique (mg/m ² /an) des différents MPO émergents les plus concentrés (BPA, 4-OP et 4-NP) entre T1 et T2, pour les différentes zones (amont, centre et aval), qui regroupent chacune les différents substrats présents et pour le filtre FS (orange) et FR (bleu). | 200 |
| Figure 3.14 : Accumulation surfacique (mg/m ² /an) des différents MPO émergents les plus concentrés entre T1 et T2 pour l'ensemble des deux filtre FS (orange) et FR (bleu). | 202 |
| Figure 3.15 : Teneur en ETM (mg/kg) et écart-type associé dans les parties aériennes (feuilles + tiges) de <i>P. australis</i> | 209 |
| Figure 3.16 : Teneur moyenne en MPO émergents (µg/kg) et écart-type associé dans les parties aériennes (feuilles + tiges) de <i>P. australis</i> de chaque filtre (FS et FR) (n = 3). | 210 |
| Figure 3.17 : Teneur en MPO émergents (µg/kg) dans les parties aériennes (feuilles + tiges) de <i>P. australis</i> des différentes zones (amont, centre et aval) du filtre FS (A) et FR (B) (n = 3). | 211 |
| Figure 3.18 : Evolution spatio-temporelle de l'abondance bactérienne (NPP/g sec) selon les différents échantillons de solide. | 214 |
| Figure 3.19 : Evolution spatio-temporelle de l'hydrolyse de la FDA (µgFluorescéine/g sec/h) selon les différents échantillons de substrats. | 217 |
| Figure 3.20 : Evolution spatio-temporelle de l'activité uréase (µgNH ₄ /g sec/h) selon les différents échantillons de substrats. | 218 |
| Figure 3.21 : Evolution verticale de l'activité uréase (µgNH ₄ /g/h) dans la zone amont des deux filtres lors de la campagne T2. | 220 |
| Figure 3.22 : Evolution spatio-temporelle de l'AWCD selon les différents échantillons de substrats. | 222 |
| Figure 3.23 : Analyse en Composante Principale (ACP) du sable de surface et du Rc lors des campagnes T0 et T2. | 224 |
| Figure 3.24 : Analyse en Composante Principale (ACP) des différents substrats lors de la campagne sans le sédiment. | 232 |
| Figure 3.25 : Analyse en coordonnées principales (PCoA) basée sur les distances Bray-Curtis (diversité bêta) des bactéries des différents échantillons lors des trois campagnes de prélèvement. | 238 |
| Figure 3.26 : Analyse en coordonnées principales (PCoA) basée sur les distances Bray-Curtis (diversité bêta) des champignons des différents échantillons lors des trois campagnes de prélèvement. | 239 |
| Figure 3.27 : Abondance relative (%) des phyla bactériens les plus abondants (>1 %) dans les différents substrats, aux différentes localisations et campagnes. | 241 |
| Figure 3.28 : ACP des différents substrats lors de la campagne T2. | 244 |

| | |
|---|-----|
| Figure 3.29 : Abondance relative (%) des phyla fongiques les plus abondants (>1 %) dans les différents substrats, aux différentes localisations et campagnes. | 245 |
| Figure 3.30 : ACP des différents substrats lors de la campagne T0 (A) et T2 (B) dans les filtres FS et FR. | 249 |
| Figure 3.31 : Carte de chaleur des coefficients de corrélations de Spearman obtenues par la comparaison des phyla bactériens (A) ou fongiques (B) dominants et les teneurs en micropolluants organiques et métalliques dans le sable de surface au T2. | 251 |
| Figure 3.32 : The different columns setup for the experiment. | 259 |
| Figure 3.33 : Degradation kinetics of bisphenol A (BPA), nonylphenol (NP) and octylphenol (OP) in sand (S), Rainclean (RC) and sediment (Sdt). | 264 |
| Figure 3.34 : Comparison of percentage of degradation (A) and DT50 (B) for the different substrates (sand, RC and sediment) and OMP (BPA, 4-NP and 4-OP). | 266 |
| Figure 3.35 : Principal component analysis (PCA) of all samples according to pollutant Know (poll_Kow), percent of degradation (X_degrad), DT50, substrate carbon content (substr_C) and CEC (substr_CEC). Axes 1 and 2 explained respectively 41.45 % and 27.24 % of the total variance. | 267 |
| Figure 3.36 : Evolution of total enzymatic activity (hydrolysis of FDA) during kinetics according to substrates and modalities. | 268 |
| Figure 3.37 : Relative abundance (%) of the most abundant bacterial phyla (>1 %) in sand, RC and sediment, according to modality (planted, unplanted and control) and time (initial, T0 and final, T30). | 269 |
| Figure 3.38 : Principal coordinate analysis (PCoA) based on the Bray-Curtis distance (beta diversity) between sand, Rainclean (RC) and sediment of different modality and time. | 271 |
| Figure 3.39 : LEfSe analysis of the different substrates according to conditions, represented by histograms of LDA scores of 16S gene sequences. | 272 |
| Figure 3.40 : Principal component analysis (PCA) at the end (T30) of degradation kinetics for sand and RC. | 278 |
| Figure 3.41 : Description of the reed bed filter. | 282 |
| Figure 3.42 : Saturation of diversity after the rarefaction of sample sequences (normalization to the lower number of sequences in a sample). | 284 |
| Figure 3.43 : Z-score hierarchical clustering heat map representing the relative abundance of most abundant genera (> 1%) at the final time (T30) for all conditions and substrates. | 286 |
| Figure 3.44 : LEfSe analysis of the different substrates according to conditions, represented by histograms of LDA scores of 16S gene sequences. | 289 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|-----|
| Tableau 1.1 : Description des six types de polluants issus des eaux de ruissellement en zone urbaine. | 7 |
| Tableau 1.2 : Liste des micropolluants étudiés dans le cadre du projet Life Adsorb. | 11 |
| Tableau 1.3 : Caractéristiques physico-chimiques des métaux. | 12 |
| Tableau 1.4 : Concentrations totales minimum et maximum (concentrations dissoutes minimum et maximum) en métaux observées dans les eaux de ruissellement de voirie en Europe. | 13 |
| Tableau 1.5 : Caractéristiques physico-chimiques des 16 HAP. | 16 |
| Tableau 1.6 : Concentrations totales minimum et maximum (concentrations dissoutes min et max) en HAP et HCT observées dans les eaux de ruissellement de voirie en Europe. | 17 |
| Tableau 1.7 : Caractéristiques physico-chimiques du bisphénol-A et des alkylphénols. | 20 |
| Tableau 1.8 : Concentrations totales minimum et maximum (concentrations dissoutes minimum et maximum) en alkylphénols et bisphénol-A observées dans les eaux de ruissellement de voirie en Europe. | 21 |
| Tableau 1.9 : Les différentes terminologies employées dans le cadre de la gestion des eaux de ruissellement dans le monde. | 25 |
| Tableau 1.10 : Les différents termes employés pour parler de filtres plantés de roseaux. | 29 |
| Tableau 1.11 : Principales différences de fonctionnement entre un FPR-Vertical et un FPR-Horizontal. | 31 |
| Tableau 1.12 : Synthèse des avantages et inconvénients de la mise en place de FPR en milieu urbain pour le traitement des eaux pluviales. | 32 |
| Tableau 1.13 : Efficacités épuratoires moyennes calculées dans la littérature, dans des FPR verticaux traitant les eaux de ruissellement et synthèse des efficacités épuratoires. | 36 |
| Tableau 1.14 : Les différents processus de rétention et d'élimination des micropolluants organiques et métalliques dans les OGEP et donc les FPR, et les paramètres associés permettant d'évaluer leur intensité. | 41 |
| Tableau 1.15 : Teneurs moyennes (et leurs écart-types lorsqu'ils étaient disponibles) en ETM retrouvées dans la littérature dans des FPR traitant les eaux de ruissellement uniquement. | 45 |
| Tableau 1.16 : Teneurs moyennes (et leurs écart-types lorsqu'ils étaient disponibles) en HAP retrouvées dans la littérature dans des FPR traitant les eaux de ruissellement uniquement. | 49 |
| Tableau 1.17 : Valeurs seuils d'intervention définies par différents pays pour les métaux. | 54 |
| Tableau 1.18 : Valeurs seuils d'intervention définies par les Pays-Bas pour les micropolluants organiques émergents. | 54 |
| Tableau 1.19 : Valeurs seuils d'intervention définies par différents pays pour les micropolluants organiques traditionnels (MPO), les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP). | 55 |
| Tableau 1.20 : Seuils utilisées pour considérer ou non une plante comme hyperaccumulatrice. | 59 |
| Tableau 1.21 : Teneurs (teneur moyenne ou min-max observés) en ETM et facteurs associés (FBC : Facteur de bioconcentration ; FT : Facteur de translocation) dans les tissus de <i>Phragmites australis</i> (P.au) retrouvées dans la littérature sous différents contextes. | 61 |
| Tableau 1.22 : Teneurs (teneur moyenne ou min-max observés) en MPO et facteurs associés (FBC : Facteur de bioconcentration ; FT : Facteur de translocation) dans les tissus de <i>Phragmites australis</i> (P.au) retrouvées dans la littérature sous différents contextes. | 64 |
| Tableau 1.24 : Embranchements dominants (% relatif) dans des sols ou sédiments d'ouvrages de gestion des eaux pluviales (OGEP) retrouvés dans la littérature. | 75 |
| Tableau 1.25 : Biodégradation aérobie des alkylphénols dans les sols ou sédiments, plantés ou non. | 85 |
| Tableau 1.26 : Genres bactériens connus pour leur capacité à dégrader les alkylphénols dans des sols, sédiments ou boues. | 88 |
| Tableau 1.27 : Biodégradation aérobie du bisphénol-A (BPA) dans les sols ou sédiments, plantés ou non. | 91 |
| Tableau 1.28 : Genres bactériens connus pour leur capacité à dégrader le bisphénol-A dans des sols, sédiments ou boues ou encore avec des souches pures. | 93 |
| Tableau 1.29 : Synthèse des temps de demi-vie (DT50) moyens (min-max) calculés des 3 familles de MPO à partir des références citées, et comparaison avec les propriétés physico-chimiques des composés. | 94 |
| Tableau 1.30 : Synthèse des genres microbiens recensés dans la littérature citée pouvant dégrader les micropolluants organiques, dans des matrices substrats, en condition aérobie. | 95 |
| Tableau 2.1 : Composition du filtre planté de roseaux subdivisé en deux filtres, FS et FR. | 102 |
| Tableau 2.2 : Nombre total d'échantillons composites récupérés lors des trois campagnes T0, T1 et T2 et nomenclature associée selon leurs localisations horizontales (zone) et verticales (profondeur). | 111 |
| Tableau 2.3 : Les différents types d'échantillons de substrats et de <i>P. australis</i> récupérés au cours des campagnes de prélèvement. | 114 |
| Tableau 2.4 : Conservation et préparation des échantillons selon les analyses réalisées. | 115 |
| Tableau 2.5 : Analyses physico-chimiques réalisées sur les substrats lors des trois campagnes de prélèvement et les normes et méthodes associées. | 117 |

| | |
|--|-----|
| Tableau 2.6 : Limites de quantification (LQ), incertitudes de mesure et unités utilisées selon les différents paramètres physico-chimiques mesurés. | 118 |
| Tableau 2.7 : Micropolluants organiques et métalliques étudiés et laboratoires responsables..... | 119 |
| Tableau 2.8 : Limites de quantification (LQ), incertitudes de mesures et unités associées à l'analyse des différents éléments traces métalliques. | 120 |
| Tableau 2.9 : Limites de quantification (LQ), incertitudes de mesures et unités associées à l'analyse des HAP et indices HC..... | 121 |
| Tableau 2.10 : Solvants et composés utilisés pour l'analyse des alkylphénols, BPA et PAE. | 122 |
| Tableau 2.11 : Les composés ciblés lors de l'analyse ainsi que leur étalon interne d'extraction et d'injection. .. | 124 |
| Tableau 2.12 : Gradient d'éluion de la phase mobile dans la colonne Acquity UPLC BEH C18, avec débit à 0,4 mL/min. | 125 |
| Tableau 2.13 : Paramètres de l'UPLC-MS-MS selon les composés..... | 125 |
| Tableau 2.14 : Paramètres constants du spectromètre de masse selon une ionisation réalisée en mode positif (ESI+) ou négatif (ESI-). | 126 |
| Tableau 2.15 : Concentrations minimum et maximum de chaque composé dosé dans les gammes basses (point 1 à 7) et hautes (point 7 à 12). | 126 |
| Tableau 2.16 : Limites de quantification (LQ) instrumentales, en quantité injectée et en teneur pour une prise d'essai de 500 mg. | 127 |
| Tableau 2.17 : Teneurs moyenne des blancs d'extraction (écart-type) et comparaison selon la limite de quantification (LQ)..... | 127 |
| Tableau 2.18 : Incertitudes associées aux analyses d'alkylphénols et Bisphénol-A. | 128 |
| Tableau 2.19 : Teneurs moyennes en BPA, 4-NP et 4-OP dans les blancs d'extraction..... | 129 |
| Tableau 2.20 : Utilisation ou non de l'échantillon, du tampon (ou eau) et du substrat selon les différentes modalités. | 132 |
| Tableau 2.21 : Récapitulatif des différentes activités enzymatiques dosées, ainsi que leurs fonctions, leur rôle dans les cycles biochimiques, leur origine et les unités utilisées pour les exprimer. | 136 |
| Tableau 2.22 : Présentation de la composition d'une microplaque BIOLOG. | 137 |
| Tableau 2.23 : Synthèse de toutes les analyses réalisées sur les substrats prélevés sur site, et laboratoires associés. | 141 |
| Tableau 2.24 : Limites de quantification (LQ) et incertitudes de mesures associées à l'analyse des ETM..... | 142 |
| Tableau 2.25 : Teneurs en alkylphénols et bisphénol-A dans l'unique blanc d'extraction. | 142 |
| Tableau 2.26 : Synthèse de toutes les mesures réalisées sur les végétaux prélevés sur site, et laboratoires associés. | 142 |
| Tableau 2.27 : Choix des concentrations en 4-NP, 4-OP et BPA à utiliser pour contaminer les colonnes. | 147 |
| Tableau 2.28 : Dates de début de et fin des deux séries d'incubation. | 147 |
| Tableau 2.29 : Résumé des essais de biodégradation..... | 149 |
| Tableau 2.30 : Synthèse des différentes analyses réalisées sur les substrats et modalités. | 151 |
| Tableau 2.31 : Synthèse des termes et unités utilisés pour comparer les résultats. | 160 |
| Tableau 2.32 : Calcul de la masse de Zn dans les échantillons de sable de surface du filtre FS aux temps T1 et T2, et les incertitudes associées (en bleu). | 161 |
| Tableau 2.33 : Calcul de la masse totale, puis de la teneur volumique du Zn dans le sable de surface au T1 et T2, et les incertitudes associées. | 161 |
| Tableau 2.34 : Calcul de la masse accumulée entre T1 et T2, puis de l'accumulation volumique du Zn dans le sable de surface entre T1 et T2, et les incertitudes associées. | 162 |
| Tableau 3.1 : Evolution des principales propriétés physico-chimiques des différents substrats étudiés selon le filtre, la localisation et le temps. | 165 |
| Tableau 3.2 : Volume total de sédiment mesuré (m ³ ou cm) et accumulé (m ³ /an ou m ³ /m ² /an) dans la partie amont des filtres FS et FR, lors des campagnes T1 et T2. | 173 |
| Tableau 3.3 : Teneurs (mg/kg) en ETM dans les différents échantillons selon les trois campagnes T0, T1 et T2. | 174 |
| Tableau 3.4 : Teneurs moyennes (écart-type) en Pb, Zn et Cu dans les deux filtres lors des campagnes T1 et T2, en séparant ou regroupant les données des deux filtres. | 178 |
| Tableau 3.5 : Facteurs d'enrichissements en ETM calculés entre T2 et T0 dans les différents échantillons. | 181 |
| Tableau 3.6 : Teneurs (µg/kg) en micropolluants organiques émergents (alkylphénols alkylphénols et bisphénol-A BPA) dans les différents échantillons selon les trois campagnes (T0, T1 et T2). | 191 |
| Tableau 3.7 : Teneurs (mg/kg) en indices HC totaux (C10-C40) dans les différents échantillons selon les trois campagnes (T0, T1 et T2). | 192 |
| Tableau 3.8 : Facteurs d'enrichissements des MPO calculés entre T0 et T2 dans les différents échantillons. .. | 195 |
| Tableau 3.9 : Comparaison des concentrations théoriques en ETM dans les deux filtres (µg/L, calculées à partir du stock d'ETM accumulé mesuré au T2 (g/2ans) divisé par le volume total d'eaux de ruissellement infiltré) avec des concentrations mesurées dans le ruissellement d'autoroute en Ile-de-France. | 203 |

| | |
|---|-----|
| Tableau 3.10 : Coefficients de corrélation de Spearman ($n = 20$) obtenus entre le carbone organique accumulé, la distance depuis la zone d'alimentation, la profondeur et les différents micropolluants accumulés entre T0 et T2 (g/m ³ /an). | 206 |
| Tableau 3.11 : Comparaison des teneurs en métaux retrouvées au T2 dans les différents substrats des deux filtres regroupés (teneur minimum et maximum observée) avec les teneurs seuils indiquées par d'autres pays. 207 | |
| Tableau 3.12 : Temps (an) nécessaire pour dépasser les seuils min et max définis par les Pays selon les vitesses d'accumulation calculées dans les différentes zones du sable de surface et Rainclean (entre T1 et T2). | 208 |
| Tableau 3.13 : Comparaisons des teneurs moyennes des deux FPR (mg/kg) avec des seuils définis (AFNOR, 2006 ; Commission Européenne, 2022) pour l'utilisation de végétaux comme amendement organique. | 212 |
| Tableau 3.14 : Bilan de l'exportation totale des ETM et MPO (AP, BPA et HAP) hors des deux filtres lors du faucardage des <i>P. australis</i> (g ou mg/m ²) et comparaison avec les masses totales stockées dans les massifs filtrants (tous les substrats regroupés). | 213 |
| Tableau 3.15 : Facteurs d'enrichissement des différentes activités enzymatiques calculés entre les résultats de la zone amont et de la zone aval lors de la campagne T2. | 219 |
| Tableau 3.16 : Matrices de corrélation de Spearman des paramètres biologiques des différents substrats de chaque filtre selon le temps. | 225 |
| Tableau 3.17 : Matrices de corrélation de Spearman des paramètres biologiques mesurés au T2 des différents substrats de chaque filtre selon la localisation horizontale, matérialisée par les teneurs en carbone organique accumulé (Corg acc). | 228 |
| Tableau 3.18 : Matrices de corrélation de Spearman des paramètres biologiques mesurés au T2 selon les différents substrats pour chaque filtre (séparés) selon la localisation verticale, matérialisée par la profondeur. . | 230 |
| Tableau 3.19 : Diversité alpha bactérienne des différents échantillons lors des trois campagnes (T0, T1 et T2), représentée par l'indice de Shannon, l'indice d'équitabilité et le nombre de taxons observés. | 234 |
| Tableau 3.20 : Coefficients de corrélation de Spearman obtenus lors de comparaisons multiples des indices de diversité alpha bactériens avec les informations de temporalité et de spatialisation (profondeur et carbone organique accumulé Corg acc) des substrats. | 235 |
| Tableau 3.21 : Diversité alpha fongique des différents échantillons lors des trois campagnes (T0, T1 et T2), représentée par l'indice de Shannon, l'indice d'équitabilité et le nombre de taxons observés. | 236 |
| Tableau 3.22 : Coefficients de corrélation de Spearman obtenus lors de comparaisons multiples des indices de diversité alpha fongiques avec les informations de temporalité et de spatialisation (profondeur et carbone organique accumulé Corg acc) des substrats. | 236 |
| Tableau 3.23 : Matrices de corrélation de Spearman des phyla bactériens des différents substrats de chaque filtre avec le temps. | 243 |
| Tableau 3.24 : Coefficients de corrélation de Spearman obtenus lors de comparaisons multiples des abondances relatives des phyla fongiques des différents substrats avec la variable temps. | 246 |
| Table 3.25 : Physicochemical properties of sand, Rainclean and sediment, initial and spiked contents (standard deviation) and retention (standard deviation) of bisphenol A (BPA), 4-nonylphenol (4-NP) and 4-t-octylphenol (4-OP). | 263 |
| Table 3.26 : Fitted parameters of the three kinetic models used (Single-First Order SFO, First-order multi-compartment FOMC and Hockey-Stick HS) of bisphenol-A (BPA), nonylphenol (4-NP) and octylphenol (4-OP) degradation. | 265 |
| Table 3.27 : Mean (standard deviation, $n=3$) of calculated substrate functional diversity parameters at initial (T0) and final (T30) time of biodegradation kinetics. | 268 |
| Table 3.28 : Mean (standard deviation, $n=3$) of calculated alpha diversity parameters using Shannon Index and taxa number at initial (T0) and final (T30) time of biodegradation kinetics. | 270 |
| Table 3.29 : Structure and physicochemical properties of selected OMP. | 282 |
| Table 3.30 : Description of OMP analysis methodology. | 283 |
| Table 3.31 : Relative abundance (%) of the most abundant bacterial phyla (>1 %) in sand, RC and sediment, according to modality (planted, unplanted and control) and time (initial, T0 and final, T30). | 285 |
| Table 3.32 : Relative abundances of different bacterial genera with >1% abundance. | 287 |

INTRODUCTION

Contexte

En 2020, 56 % de la population mondiale vivait en zone urbaine et ce chiffre devrait passer à 68 % d'ici 2050 (*United Nations Human Settlements Programme, 2022*), indiquant un fort développement des villes au cours des dernières décennies. Ce développement impacte le cycle de l'eau au travers des eaux pluviales. En effet, les villes sont caractérisées par de nombreuses **surfaces imperméables** telles que les bâtiments, toitures, routes ou encore parkings, qui limitent l'infiltration des eaux pluviales dans le sol (*Miller et al., 2014*). Cela engendre deux principales conséquences ; la première est la modification du bilan hydrologique de surface par l'accroissement des volumes d'eau de ruissellement au profit de ceux s'infiltrant (*Miller et al., 2014 ; FISRWG, 1998*). Les risques d'inondation sont alors plus importants lors d'épisodes de fortes pluies (*Paul et Meyer, 2001*). La deuxième conséquence est la **contamination diffuse** des eaux de ruissellement en polluants par le lessivage de l'atmosphère et des surfaces urbaines (*Gromaire et al., 1999 ; Paul et Meyer, 2001 ; Gasperi et al., 2014*). Les villes ont donc un impact sur la quantité mais également sur la qualité de ces eaux (*Burton et Pitt, 2001*), ce qui peut notamment engendrer une dégradation des milieux naturels récepteurs si elles ne sont pas traitées au préalable (*Paul et Meyer, 2001 ; Walsh et al., 2012*).

En effet, les surfaces imperméables des villes et particulièrement des zones de voiries ont été identifiées comme des sources non négligeables de polluants (*Barbosa et al., 2012 ; Revitt et al., 2014 ; Markiewicz et al., 2017 ; Lamprea et al., 2017*), tels que les **éléments traces métalliques (ETM)** : Pb, Zn, Cu, Cd, Cr, Ni) et les **micropolluants organiques (MPO)**. Parmi les MPO, les alkylphénols (AP), les phtalates (PAE) et le bisphénol-A (BPA) sont des composés émergents et préoccupants en raison de leur persistance et de leur potentiel à causer des effets néfastes sur la santé et l'environnement, même à de faibles concentrations (*MEER, 2020*). Afin de limiter la dégradation des milieux récepteurs, la Directive Cadre sur l'Eau (*European Union et Council of the European Union, 2000*) a donné des objectifs d'amélioration de la qualité des masses d'eau d'Europe d'ici 2027, en termes d'état chimique, physique et biologique. Le renforcement de la gestion des eaux pluviales est donc crucial pour atteindre ces objectifs de protection de l'environnement et de la santé publique, d'autant que certains micropolluants cités précédemment sont inscrits dans cette directive.

Avec des problématiques croissantes de surcharge des réseaux d'assainissement lors d'événements pluvieux, conduisant à des rejets urbains de temps de pluie non traités, des techniques dites alternatives se sont développées à la fin du XX^{ème} siècle afin de réintégrer l'eau dans la ville (*Chocat, 2008*). L'objectif est d'infiltrer, voire de traiter les eaux de ruissellement au plus près de leurs sources par le développement d'**ouvrages de gestion des eaux pluviales (OGEP)**. Il s'agit le plus souvent d'aménagements stockant composés de sols ou substrats perméables, dont le rôle est d'accueillir les eaux de ruissellement, réduisant alors les volumes ruisselés. Les eaux stockées sont alors progressivement évacuées vers un milieu récepteur tel qu'un fleuve, rivière, lac, nappe ou réseau d'assainissement pluvial (*Tassin et Chebbo, 2000*). Lorsque l'OGEP est prévu pour, un **traitement** des eaux est également réalisé au cours de leur infiltration dans le massif filtrant.

Les **filtres plantés de roseaux (FPR)**, initialement développés pour le traitement des eaux usées (*Vymazal et al., 2006*), sont un type d'OGEP de plus en plus utilisé appartenant aux zones humides artificielles. Il s'agit d'une excavation, étanchéifiée puis remplie de couches superposées de substrats filtrants (dont la granulométrie augmente avec la profondeur), dans lesquels des communautés microbiennes autochtones se développent et sur lesquels des macrophytes sont plantés (*Kadlec et Wallace, 2009 ; Molle et al., 2013*). Les FPR sont donc des bioréacteurs artificiels, dans lesquels différents processus biologiques, chimiques et physiques ont lieu entre l'eau et ses différents composants : sédimentation, filtration mécanique, adsorption, biodégradation, absorption, précipitation. Ils induisent ainsi la rétention voire l'élimination des polluants par le massif filtrant avant d'évacuer les

eaux. Les différents polluants sont plus ou moins impactés par ces processus selon leur nature, organique ou métallique, et selon leur forme, dissoute ou particulaire.

L'efficacité épuratoire, c'est-à-dire la capacité d'un OGEP à réduire la pollution véhiculée par les eaux de ruissellement est aujourd'hui bien documentée (*Zhang et al., 2014 ; Schmitt et al., 2015 ; Leroy et al., 2016 ; Pálffy et al., 2017 ; Flanagan et al., 2018 ; Walaszek et al., 2018 ; Branchu et al., 2018 ; Shrestha et al., 2018 ; Beryani et al., 2023b*). Les matières en suspension (MES), principal vecteur de la contamination des eaux, sont bien éliminées grâce aux processus physiques de sédimentation et de filtration. Cependant, la fraction **dissoute** de certains polluants peut être importante (Ni, Cr, Zn, BPA par exemple) et n'est généralement pas prise en compte dans la gestion des eaux de ruissellement alors qu'il s'agit de la fraction la moins bien retenue dans le massif filtrant (*LeFevre et al., 2015 ; Flanagan et al., 2018 ; 2019a*). Le traitement de la pollution dissoute s'avère donc une nécessité insuffisamment prise en compte dans les OGEP classiques. L'ajout de **matériaux adsorbants** innovants dans les massifs filtrants est une technique récente pour traiter cette contamination (*Yu et al. 2022*) dont l'efficacité doit encore être prouvée.

Le devenir des polluants une fois **retenus** dans le massif filtrant des OGEP et particulièrement des FPR a été moins documenté. Les ETM puis les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont les polluants les plus suivis dans les OGEP (*Tedoldi et al., 2017 ; Walaszek et al., 2018 ; Lenormand et al., 2022b*). Le **devenir des MPO émergents** est aujourd'hui **très peu considéré** (*Wiest et al., 2018 ; Flanagan et al., 2019b ; 2021 ; Wei et al., 2023*). De plus, les MPO sont soumis à des processus **destructifs** contrairement aux ETM (dont le devenir est une accumulation en absence de relargage). En effet, la volatilisation, la photodégradation et surtout la **(bio)dégradation** sont des processus conduisant à l'élimination du composé avec le temps, ce qui est intéressant dans les OGEP où des MPO sont retenus (*LeFevre et al., 2011 ; LeFevre et al., 2015*). La dégradation est la transformation d'un composé au travers de modification de sa structure moléculaire et la biodégradation est la dégradation par les organismes vivants, notamment par les microorganismes (bactéries, champignons, algues) (*Agteren et al., 1998*). Ces derniers étant les principaux acteurs de leur élimination, ils sont donc une composante importante pour la longévité des OGEP car ils limitent l'accumulation des polluants organiques et donc les risques de lessivage/lixiviation et de saturation des sites de sorption (*LeFevre et al., 2015*).

Bien que l'on sait que l'élimination de ces composés est principalement due aux processus biologiques microbiens, les **communautés microbiennes** et leurs **rôles**, notamment sur la biodégradation des MPO, restent aujourd'hui **méconnus** dans les OGEP et particulièrement les FPR (*Gilbert et al., 2012 ; Font Nájera et al., 2020 ; Geronimo et al., 2022 ; HongE et al., 2022*). Si quelques publications existent concernant la biodégradation de MPO traditionnels dans les OGEP (HAP : *LeFevre et al., 2011 ; LeFevre et al., 2012 ; Leroy et al., 2015 ; Hong et al., 2006*), aucune portant sur les émergents n'a été rapportée. Pourtant, leur biodégradation a été révélée par d'autres auteurs dans d'autres types de matrices tels que des sols naturels, des sédiments de rivière ou encore des boues de station d'épuration (*Ying et Kookana, 2005 ; Hseu, 2006 ; Shibata et al., 2006 ; Chang et al., 2007b ; Sjöström et al., 2008 ; Toyama et al., 2009 ; Xu et al., 2009 ; Langdon et al., 2011 ; Toyama et al., 2011 ; Li et al., 2013 ; Shen et al., 2017*). Il est alors aujourd'hui essentiel de caractériser les communautés microbiennes autochtones des OGEP, de comprendre leur dynamique dans le temps et l'espace et d'évaluer leur rôle sur l'élimination des MPO émergents afin de combler ces lacunes.

Ainsi, le devenir des micropolluants et particulièrement les MPO émergents est un aspect important à approfondir afin de mieux comprendre les mécanismes de traitement des FPR et d'améliorer leur gestion et performance dans le temps.

Projet de recherche

Cette thèse s'inscrit dans le **projet Européen LIFE-ADSORB** porté par la Ville de Paris et mis en place dans le cadre du programme européen LIFE (instrument de financement de l'Union Européenne pour l'environnement et l'action climatique). L'objectif premier de ce projet est de mettre en œuvre et de démontrer l'application d'une **solution innovante** permettant de réduire efficacement les charges polluantes des eaux de ruissellement issues du boulevard périphérique parisien, rejetées ensuite en milieu naturel. L'accent innovant est mis d'une part sur la réduction des MPO et ETM présents dans les eaux de ruissellement de voiries sous forme dissoute, par l'utilisation d'un substrat industriel aux fortes capacités de sorption. D'autre part, le site d'étude étant inséré dans un espace boisé classé au sein d'une ville densément peuplée (Bois de Boulogne à Paris), l'enjeu est également de démontrer la compatibilité des enjeux de gestion des eaux de ruissellement avec ceux de préservation de l'espace et de sa biodiversité.

Ce travail de thèse a été réalisé au sein de l'Université Paris-Est Créteil (UPEC) au Laboratoire Eau, Environnement et Systèmes Urbains (LEESU) et de la Division de la Propreté et de l'Eau (DPE) de la Ville de Paris. Elle a été financée par le Service Technique de l'Eau et de l'Assainissement (DPE-STE) de la Ville de Paris et par l'Association Nationale de la Recherche et de la Technologie (ANRT) sous forme de financement CIFRE (Convention industrielle de formation par la recherche).

Le projet LIFE-ADSORB a regroupé différents acteurs, des laboratoires de recherche (LEESU, INRAE), un bureau d'ingénierie (EcoBird), des établissements publics (UPEC, ENPC, Cerema) et la Ville de Paris. Il est défini selon **plusieurs actions** :

- 1) La **mise en œuvre** du site d'étude. Cela est passé par la réhabilitation d'un déversoir d'orage en station de pompage, puis par la mise en place de deux FPR à écoulement vertical pour le traitement des eaux. Le premier est dit conventionnel puisque sa composition est similaire aux autres systèmes déjà mis en place ; le second est dit innovant, du fait de l'ajout d'une couche du substrat adsorbant. Leur comparaison permettra d'évaluer l'apport d'un tel substrat.
- 2) Le **suivi** et la mesure de l'impact des FPR pendant trois années suivant sa mise en fonctionnement. Le suivi se traduit par l'étude de l'efficacité épuratoire des FPR, du devenir des micropolluants une fois retenus par les filtres mais également de leur impact environnemental et socio-économique.
- 3) La **modélisation** du fonctionnement global du filtre en vue de son optimisation. Les données du suivi permettront d'alimenter ce modèle.
- 4) Le développement d'un **outil opérationnel** pour faciliter la conception et le dimensionnement de nouveaux ouvrages.

Il permettra ainsi de **consolider** la base de connaissances pour le développement, suivi et évaluation des techniques pour traiter les eaux de ruissellement mais également de **valider** un nouvel outil opérationnel à disposition des acteurs européens pour la gestion des eaux de ruissellement.

Objectifs de la thèse

Les travaux menés au cours de la **thèse** s'inscrivent ainsi dans le cadre de l'action 2 et plus précisément sur le devenir des micropolluants dans les deux FPR. Dans ce contexte, l'**objectif** de cette thèse a été d'identifier et de caractériser les principaux processus biogéochimiques de rétention et d'élimination des MPO et ETM ayant lieu dans le massif filtrant des deux FPR, équipés ou non du substrat adsorbant. Les processus étant notamment contrôlés par les propriétés physico-chimiques des substrats et les communautés microbiennes les ayant colonisées, les interactions microorganismes/substrats, micropolluants/substrats, et microorganismes/micropolluants ont été étudiées.

Les interactions des micropolluants et des microorganismes avec les substrats progressivement contaminés ont été évaluées au travers d'un **suivi in situ** de trois ans des FPR dans le temps et l'espace, permettant d'avoir une vision dynamique du système. Pour cela, le développement du dépôt

de sédiment et l'accumulation de micropolluants au sein des différentes couches de substrats et des végétaux ont été déterminés par des bilans. L'évolution spatio-temporelle des propriétés physico-chimiques, des micropolluants et des communautés microbiennes des substrats et sédiments a également été suivie afin d'évaluer l'impact de l'alimentation en eaux de ruissellement sur les FPR. Ce suivi *in situ* a permis de répondre aux questions suivantes : Quelles sont les propriétés physico-chimiques des différents substrats constituant les massifs filtrants des deux filtres, et comment évoluent-elles ? Où et comment sont stockés les micropolluants organiques et métalliques retenus ? Quelle est leur accumulation annuelle ? Une différence de stockage et d'accumulation est-elle observée entre les deux FPR ? La végétation participe-t-elle à l'accumulation des micropolluants dans les FPR ? Les substrats sont-ils considérés comme « pollués » après deux ans d'alimentation ? Quelles communautés bactériennes et fongiques sont présentes dans les deux filtres et quelles sont leurs activités ? Sont-elles impactées dans le temps et l'espace par l'apport d'eau de ruissellement contaminée ?

Les cinétiques de biodégradation de MPO émergents sélectionnés, par les communautés microbiennes autochtones des différents substrats, ont également été évaluées par des études en colonne en conditions contrôlées au **laboratoire** (interactions microorganismes/micropolluants). L'objectif principal était de comprendre le rôle des bactéries, des substrats et de la végétation sur le processus de dégradation, et d'obtenir les constantes de dégradation associées afin d'alimenter le modèle du fonctionnement global de l'ouvrage. Cela a alors permis de répondre aux questions suivantes : Quelles sont les cinétiques de biodégradation des MPO ciblés ? A quelles vitesses sont-ils dégradés ? Y-a-t-il une différence de dégradation selon le substrat ? La présence de MPO impacte-t-elle la structure et l'activité des communautés microbiennes ? Quels sont les rôles de la végétation implantée dans les FPR et des différents substrats sur la sélection de communautés microbiennes et sur la dégradation des MPO ?

Structure du manuscrit

Le présent manuscrit est organisé en trois parties :

La **Partie 1** (chapitres I, II et III) est **une synthèse des connaissances** concernant la contamination des eaux pluviales en ville (partie I), l'utilisation des FPR pour le traitement de ces eaux et les processus ayant lieu dans le massif filtrant (partie II) et enfin la caractérisation de la végétation et des communautés microbiennes dans ces ouvrages, avec leurs rôles sur le devenir des MPO (partie III).

La **Partie 2** (chapitres IV à X) correspond au volet matériel et méthodes qui présente le site d'étude et la méthodologie mise en place pour son suivi dans le temps et l'espace. Cela passe par la présentation des campagnes de prélèvement réalisées, des protocoles de préparation et d'analyses des échantillons substrats récupérés et du traitement des données. La méthodologie des essais de biodégradation des MPO ciblés, réalisés au laboratoire, est également détaillée.

La **Partie 3** (chapitres XI et XII) présente les principaux résultats obtenus. Le chapitre XI est consacré à la présentation et discussion des résultats de l'évolution du massif filtrant des deux FPR dans le temps et l'espace, en termes de propriétés physico-chimiques, microbiologiques et biochimiques et en termes de rétention et d'accumulation de micropolluants (organiques et métalliques). Le chapitre XII présente sous forme d'un article en anglais (en cours de soumission) les résultats des essais de biodégradation de trois MPO (BPA, nonylphénol 4-NP et octylphénol 4-OP) dans des colonnes composées de chaque substrat du massif filtrant des FPR.

Pour clôturer ce manuscrit, la **conclusion générale** permettra une synthèse globale des résultats obtenus au cours de ces trois ans de recherche et mettra en perspectives les aspects à approfondir.

PARTIE 1 - ETAT DE L'ART

I - Contamination des eaux de ruissellement en milieu urbain

I-1. Les impacts de l'urbanisation sur les eaux de ruissellement

En 2020, **56 %** de la population vivait en zone urbaine (79 % dans les régions développées, 52 % dans celles en voie de développement) et ce chiffre devrait passer à 68 % d'ici 2050 (87 % dans les régions développées, 66 % dans celles en voie de développement) (*United Nations Human Settlements Programme, 2022*). Le développement de ces zones urbaines est à l'origine d'impacts sur le cycle de l'eau, notamment sur les eaux pluviales et de ruissellement. Les eaux pluviales sont toutes celles passant du compartiment atmosphérique au compartiment terrestre tandis que les eaux de ruissellement correspondent à l'eau une fois le contact avec le sol atteint. Elles vont alors pouvoir soit s'infiltrer dans les sols et rejoindre les nappes souterraines, ou bien ruisseler en aval d'un bassin versant et finir dans un cours d'eau.

L'urbanisation a des impacts sur les eaux pluviales au travers de plusieurs aspects. D'une part, l'artificialisation des sols au travers de la construction de routes, bâtiments, trottoirs, parking cause une **imperméabilisation** des sols, (*Dunne et Leopold, 1978*). Cela a pour directe conséquence une modification du bilan hydrologique de surface par **l'accroissement des volumes** d'eau de ruissellement au profit de ceux s'infiltrant (*Miller et al., 2014*). Par exemple, en milieu fortement urbanisé, environ 55 % des eaux pluviales vont ruisseler contre 10 % en milieu naturel non imperméabilisé (Figure 1.1). Les conséquences directes sont le débordement des cours d'eau causant alors des inondations lors d'épisodes de fortes pluies (*Paul et Meyer, 2001*). D'autre part, le **lessivage** de l'atmosphère et des surfaces urbaines a pour conséquence la **contamination diffuse** des eaux de ruissellement en contaminants organiques et métalliques (*Gromaire et al., 1999 ; Gasperi et al., 2010 ; Paul et Meyer, 2001*).

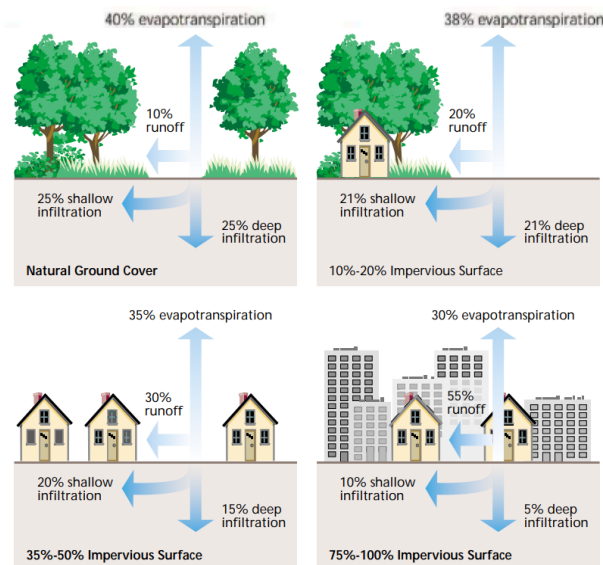


Figure 1.1 : Relation entre la surface imperméable et le volume de ruissellement (d'après FISRWG, 1998).

Les villes ont donc un impact sur la **quantité** mais également sur la **qualité** des eaux de ruissellement (*Burton et Pitt, 2001*), le second aspect ayant été largement négligé jusqu'à la seconde moitié du 20^{ème} siècle. En effet un **rejet** de ces eaux dans les milieux naturels récepteurs sans traitement au préalable peut engendrer une **dégradation** de leurs **qualité** (*Gromaire et al., 1999 ; Paul et Meyer, 2001 ; Walsh et al., 2012*), en raison de la présence de **polluants** qui ont des impacts toxicologiques et/ou écotoxicologiques à court ou long terme.

En effet, par temps de fortes pluies, des **Rejets Urbains de Temps de Pluie** (RUTP) voient le jour. Il s'agit de « l'ensemble des eaux rejetées dans un milieu naturel par les installations de collecte et

d'épuration, les déversoirs d'orage et les exutoires pluviaux lors d'un événement pluvieux et la période de temps qui lui succède » (Chocat et al., 2007).

I-2. Types et sources de polluants en milieu urbain

I-2.1. Types de polluants

Un **contaminant** est une substance présente dans un milieu naturel alors qu'elle ne devrait pas l'être, sans provoquer des dommages à ce milieu. Un **polluant** est, d'après la définition proposée par *Atteia (2015)*, « une espèce d'origine naturelle ou anthropique [...] présente dans l'environnement en quantité suffisamment importante pour entraîner des effets indésirables sur les écosystèmes ou la santé humaine, ou montrant des concentrations de plus d'un ordre de grandeur supérieures au fond géochimique local ». Les contaminants, de nature organiques ou inorganiques (nutriments et métaux) dégradent certaines propriétés de l'eau et peuvent la rendre impropre à la consommation s'ils sont présents en quantité trop importante.

Selon *Barbosa et al. (2012)* ainsi que *Atteia (2015)*, les polluants issus des eaux de ruissellement en zones urbaines peuvent être classifiés en **6 catégories** : matières en suspension (MES), nutriments, métaux (Eléments trace métalliques, **ETM**), micropolluants organiques (**MPO**), matières organiques biodégradables et microorganismes pathogènes. Ils sont décrits dans le Tableau 1.1.

Tableau 1.1 : Description des six types de polluants issus des eaux de ruissellement en zone urbaine (selon *Barbosa et al., 2012*).

| Matières en suspension | Nutriments | Micropolluants métalliques |
|--|---|---|
| Provoquent de la turbidité, véhiculent une partie importante des polluants | Azote, phosphore et leurs différentes formes (NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻ , PO ₄ ³⁻) pouvant provoquer des phénomènes d'eutrophisation | Pb, Zn, Cd, Cu, Ni, Cr, toxiques pour les êtres vivants selon les concentrations |
| Micropolluants organiques | Matières organiques biodégradables | Microorganismes pathogènes |
| Hydrocarbures (HC), hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), polychlorobiphényles (PCB), pesticides et de nombreux autres polluants émergents (Bisphénol-A, alkylphénols, médicaments ...), toxiques pour les êtres vivants à faible concentration | Partie biodégradable de la pollution organique rejetée, pouvant entraîner des déficits importants en oxygène dans les cours d'eau | Coliformes fécaux, staphylocoques, virus etc. provoquant des troubles de santé, maladies... |

Dans cette thèse, nous allons nous concentrer sur les micropolluants. Un **micropolluant** est défini par le « Plan Micropolluant 2016-2021 » du Ministère de l'Environnement, de l'Energie et de la Mer (*MEER 2020*) comme étant « une substance indésirable détectable dans l'environnement à très faible concentration (microgramme par litre voire nanogramme par litre). Sa présence est, au moins en partie, due à l'activité humaine (procédés industriels, pratiques agricoles ou activités quotidiennes) et peut à ces très faibles concentrations engendrer des effets négatifs sur les organismes vivants en raison de sa toxicité, de sa persistance et de sa bioaccumulation ». Dans la réglementation européenne, plus de 110 000 molécules sont recensées, de nature organique ou minérales et biodégradables ou non. Contrairement aux ETM, les MPO sont généralement biodégradables même si certains le sont difficilement (hydrocarbures lourds, polychlorobiphényles, hydrocarbures aromatiques polycycliques lourds etc) et vont tendre à une accumulation dans l'environnement (*Girard et al. 2011*).

I-2.2. Origines des polluants dans les eaux de ruissellement urbain

Les activités humaines génèrent de nombreux contaminants, qui peuvent être émis dans **l'atmosphère** et s'accumuler sur les **surfaces** par temps sec, il s'agit de **dépôt sec**. Par temps de pluie, les contaminants émis dans l'atmosphère sont alors captés par les pluies provoquant leur contamination par les retombées atmosphériques (**dépôt humide**) et par le **lessivage** des surfaces urbains (*Branchu et al., 2013*). Ces eaux seront finalement acheminées vers des réseaux d'assainissement séparatifs ou unitaires pour être traités ou non (devenir des RUTP) ou bien vers les couches du sol par infiltration.

Cette dernière est la plus intéressante car elle limite les flux d'eaux dans les stations de traitement (Chocat, 2008).

Le type de pollution en ville est essentiellement **diffus** avec une forte variabilité spatiale et temporelle des volumes d'eau et des polluants véhiculés. En effet d'après des travaux de thèse (Bressy 2010), il a été mis en évidence que certains polluants comme le zinc étaient plus concentrés en amont et moins concentrés en aval suite à la dilution). D'autres étaient plus concentrés en aval (comme les MES et les matières organiques). De plus, il a été mis en évidence que le **type** et la **source** de contaminants dans les eaux de ruissellement dépendaient de **l'occupation des sols** ainsi que les **activités** pratiquées (Göbel et al., 2007). Zgheib (2009) ainsi que Gromaire et al. (2013) ont pu élaborer un tableau résumant les différentes sources potentielles de polluants (non exhaustif), la Figure 1.2 représente ces sources. Trois grands types de sources (naturelles, urbaines et industrielles) sont mises en évidence. En zone urbaine, la qualité et la génération des eaux de ruissellement dépendent ainsi de plusieurs facteurs très importants (Gromaire et al. 2013) : Les caractéristiques des sites (occupation du sol, degré d'imperméabilisation, matériaux utilisés qui entrent en contact avec la pluie...), le type et l'intensité des activités anthropiques (industriel, urbain, trafic routier, surface du site, intensité de l'usage...) ainsi que les caractéristiques climatiques (intensité, durée des pluies, période de temps sec avant la pluie...).

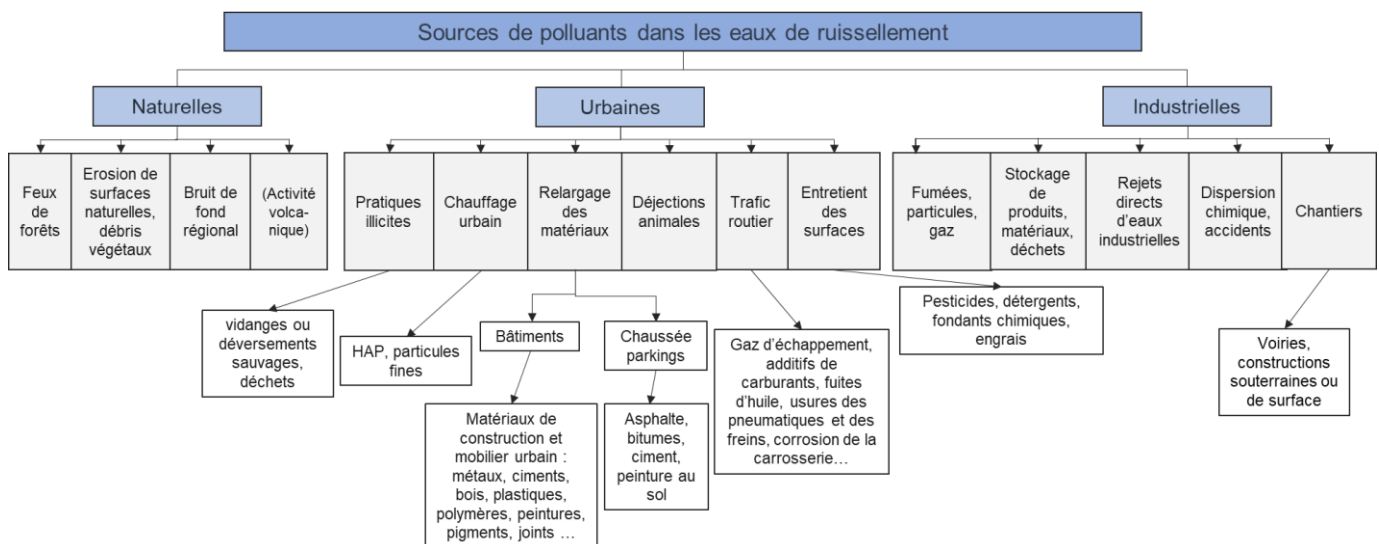


Figure 1.2 : Les différentes sources de contaminants dans les eaux de ruissellement en ville (selon Zgheib, 2009 et Gromaire et al., 2013).

I-2.3. Origine des micropolluants routiers

Le trafic routier représente une source majeure de micropolluants émis vers l'atmosphère et les eaux de ruissellement. Les micropolluants émis sont de nature **métallique** (cadmium, chrome, cuivre, plomb, nickel, zinc ...) et **organique** (hydrocarbures aromatiques polycycliques, hydrocarbures, alkylphénols, bisphénol A, phtalates ...). Dans une revue, Markiewicz et al. (2017) ont par exemple identifiés 1 100 polluants organiques pouvant être émis dans l'environnement à partir du trafic routier. Les émissions de contaminants en contexte routier peuvent être chroniques (émissions des véhicules, usure des composés des automobiles et des routes), accidentelles (déversements), saisonnières (salage des routes en hiver) et temporaires (travaux par exemple) (Branchu et al., 2013). La pollution chronique est la plus documentée. Les différentes sources de contaminants en milieu routier sont donc :

- **Les véhicules en circulation.** Premièrement, lors de l'utilisation de véhicules, la combustion incomplète du carburant émet différents contaminants au travers des **émissions des gaz d'échappement** tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), hydrocarbures aliphatiques, alcanes et alcènes et autres composés organiques (aldéhydes et cétones, acides etc.) (Markiewicz et al., 2017), ces émissions sont responsables de la principale source d'HAP en milieu routier. Les pots catalytiques utilisés pour limiter la nocivité des gaz d'échappement sont constitués de platine, palladium, rhodium, d'oxydes de zinc, fer et d'autres ETM (Lim et al., 2006), dont leur corrosion avec le temps les libère dans l'environnement.

Une autre source provient directement des **composants des véhicules**. Etant exposés aux frottement, les garnitures de freins, les pneumatiques et les carrosseries peuvent se dégrader libérant des particules qui peuvent être ensuite entraînés par les eaux de ruissellement (*Briand et al., 2018*). Les composants en plastique des carrosseries, les peintures et laques contiennent de nombreux adjuvants tels que les phtalates (PAE), des alkylphénols (AP), les alkylphénols éthoxylés (APnEO) ou encore le bisphénol-A (BPA) (*Markiewicz et al., 2017*). Dans leur étude, *Lamprea et al. (2017)* ont montré que les carrosseries libéraient des AP (essentiellement le nonylphénol) et du BPA. L'usure des plaquettes de freins résultant du freinage des véhicules est une source non négligeable de ETM sous forme particulaire, avec surtout du zinc (Zn) et du cuivre (Cu), mais également du plomb (Pb) et cadmium (Cd) (*Budai et Clement, 2011*). Des MPO peuvent également être émis depuis ces plaquettes de frein, tels que des HAP, des benzaldéhydes, acides benzoïques, alcanoniques et oléiques (*Markiewicz et al., 2017*). Dans leur même étude, *Lamprea et al. (2017)* ont montré que les pneus émettaient surtout du BPA et de l'octylphénol (un alkylphénol) et *Markiewicz et al. (2017)* qu'ils libéraient des PAE, AP et APnEO, HAP, alcanes et acides alcanoniques et oléiques, stérans et résines.

L'utilisation de **fluides** dans les automobiles est également une source de micropolluants pour les eaux de ruissellement en raison de nombreux additifs notamment (*Briand et al., 2018*). Cela regroupe les liquides de refroidissement et de frein, les huiles moteurs, les carburants, les produits de lave glace, le lubrifiant ainsi que les produits d'entretien. Tout d'abord, lors de fuites de carburant, des hydrocarbures aliphatiques et aromatiques ainsi que leurs dérivés sont libérés (*Deshayes et al., 2016*). Pour les autres liquides, de nombreux MPO sont retrouvés tels que les AP et APnEO (liquides de freins, huiles moteurs, lubrifiants), le BPA (liquides de freins, liquide de refroidissement, lubrifiants), les HAP (huiles moteur, carburant, lubrifiants) ou encore les PAE (lubrifiants) (*Deshayes et al., 2016 ; Markiewicz et al., 2017*). Les huiles moteurs sont les fluides contenant le plus d'ETM, essentiellement du Zn (*Pagotto 1999*). Le remplacement du Pb dans les carburants (diesel) dans les années 2000 en France a entraîné l'ajout de composés tels que les BTEX (Benzène, Toluène, Ethylbenzène, Xylène), les MTBE (méthyl tertiary butyl ether) et ETBE (ethyl tertiary butyl ether) malgré la diminution du Pb (*Branchu et al., 2013*). Toutes ces fuites de fluides peuvent ainsi contaminer les eaux de ruissellement en MPO essentiellement.

● **L'usure des chaussées et des équipements routiers.** Le **revêtement de la route** s'use avec le temps et libère des micropolluants. Avant son interdiction, le goudron était une source de HAP, aujourd'hui le bitume est utilisé et produit moins de ces composés. L'abrasion du bitume et de l'asphalte sont des sources de MPO au travers de PAE, AP et APnEO, amides, amines, BPA et antioxydants (*Markiewicz et al., 2017*). Des ETM sont également retrouvés dans le bitume (Ni, Fe, Mg) et dans l'asphalte (Cu, Zn, Pb, Cr, Ni, Cd) (*Revitt et al., 2014*). Le béton libère également majoritairement du nonylphénol et NPnEO, utilisés comme adjuvants (*Markiewicz et al., 2017 ; Lamprea et al., 2017*).

Les **équipements routiers** peuvent également émettre des micropolluants. Les glissières de sécurité libèrent du Fe et Zn (*Pagotto 1999*), ainsi que les panneaux de signalisation fabriqués en acier galvanisé (Zn essentiellement) (*Huber et al., 2016*). Les peintures de route contiennent également des adjuvants tels que des PAE, AP et APnEO, BPA et résines (*Markiewicz et al., 2017*).

● **Les dépôts atmosphériques.** Finalement, les différents micropolluants émis dans l'atmosphère, c'est à dire les HAP issus de la combustion incomplète du carburant, les particules fines émises contenant des ETM ou encore les MPO (*Gasperi et al., 2014*) peuvent se déposer sur les surfaces urbaines par temps sec ou temps de pluie, participant alors aux dépôts secs et humides.

Pour conclure sur l'origine des micropolluants routiers, plus une route est importante (taille, trafic), plus les émissions et dépôts de contaminants seront importants puisqu'elles seront plus fréquentées. L'émission de ces composés dépendra du nombre de voitures utilisant la route, des types de pneus, le type de route et les conditions météorologiques (*Markiewicz et al., 2017*). Enfin, la diversité de micropolluants émis en contexte routier est très élevée.

I-3. Cadre réglementaire des milieux aquatiques

Au niveau Européen, la **Directive Cadre sur l'Eau** (DCE) 2000/60/CE (*European Union et Council of the European Union, 2000*) adoptée en 2000 est une législation très importante fixant des

objectifs de protection et restauration de la qualité écologique et chimique des eaux de surface et souterraines. Elle a établi un cadre pour la gestion des ressources en eaux dans l'ensemble de l'Union Européenne. Cela passe notamment par la détermination de substances prioritaires à limiter voire interdire pour réduire leur occurrence dans les eaux. Les objectifs de la DCE étaient définis pour 2015, mais des programmes de mesures complémentaires jusqu'en 2027 (dernière échéance) ont été mis en place car ces objectifs n'ont pas tous été atteints. La DCE est complétée par plusieurs directives filles qui abordent des aspects spécifiques de la gestion de l'eau.

Un aspect important est les **substances à surveiller et contrôler** en raison de leur effet néfaste sur l'environnement. Ainsi, la Directive 2000/60/CE a établi dans un premier temps une liste de **33 substances prioritaires** (représentant un risque important pour le milieu aquatique), puis **8 substances** ont été ajoutées par la suite dans la Directive 2006/11/CE (*European Union et Council of the European Union, 2006*). Enfin, la Directive 2013/39/UE (*European Union et Council of the European Union, 2013*) a complété la liste, ayant finalement un nombre total de **45 substances prioritaires**. Ces substances comprennent des polluants organiques persistants, des substances cancérigènes, mutagène, des perturbateurs endocriniens ou encore des métaux.

En plus de définir les substances prioritaires, il a fallu établir des **critères de qualité** pour ces substances. Ainsi, des **normes de qualité environnementales** (NQE) pour les substances retenues ont été établies par la suite avec la Directive 2008/105/CE (*European Union et Council of the European Union, 2008*) et complétées dans la Directive 2013/39/UE (*European Union et Council of the European Union, 2013*). Ces normes définissent les niveaux acceptables de concentration de ces substances dans l'eau et les états membres doivent s'assurer que les eaux atteignent ces NQE.

Toutes ces substances sont regroupées dans l'annexe I de la Directive 2013/39/UE (issue de l'annexe X de la Directive 2000/60/CE), et les NQE dans l'annexe II de la Directive 2013/39/UE (issue de l'annexe I de la Directive 2008/105/CE). L'Annexe 1-1 de ce manuscrit indique finalement les substances prioritaires retenues.

Afin de compléter la DCE, au niveau national, l'Arrêté du 25 janvier 2010 relatif aux méthodes et critères d'évaluation de l'état écologique, de l'état chimique et du potentiel écologique des eaux de surface pris en application des articles R. 212-10, R. 212-11 et R. 212-18 du code de l'environnement (*MEEDDM, 2010*) a été mis en place. Cet arrêté précise les méthodes et les critères d'évaluation de l'état chimique et écologique des masses d'eau. Il liste également les NQE de différents micropolluants en plus de ceux déjà inscrits dans la DCE (zinc, arsenic, chrome et cuivre par exemple).

Finalement, la Commission Européenne a récemment fait une proposition de Directive révisée sur le traitement des eaux urbaines résiduaires (*European Commission, 2022*). La Directive initialement mise en place (Directive 91/271/CEE du Conseil du 21 mai 1991 relative au traitement des eaux urbaines résiduaires) considérait essentiellement les sources domestiques, sans inclure les eaux pluviales. Cette Directive révisée prend donc maintenant en considération les eaux de ruissellement en ville et prévoit des jalons pour sa gestion, entre 2025 et 2040. Il s'agirait donc de la première Directive qui prendrait directement en compte les eaux de ruissellement en ville.

I-4. Sélection des micropolluants à étudier

Le choix des molécules à considérer dans ce projet a été réalisé selon leur **potentielles émissions** par les véhicules et routes et selon leur importance dans les eaux de ruissellement de voirie. Dans les eaux de ruissellement, les ouvrages de gestion des eaux pluviales et les filtres plantés de roseaux, les **ETM** ont été largement plus étudiés. En effet, leur présence et impact ont été largement documentés en raison de leur facile identification et quantification (*Mikkelsen et al., 1997 ; Mason et al., 1999 ; Stachel et al., 2010 ; Leroy et al., 2016 ; Flanagan et al., 2018 ; Gasperi et al., 2022*). De plus, certains sont inscrits comme polluants prioritaires dans la DCE : Cd, Pb et Ni. En effet, à trop fortes teneurs, ils peuvent avoir des impacts écotoxicologiques (détaillé dans la section 1.4.2.1.3). Ils seront

donc étudiés au cours de cette thèse. Les micropolluants organiques (MPO) ont été quant à eux moins étudiés.

Les **hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)** sont les MPO les plus souvent étudiés dans les eaux et ouvrages (Stachel et al., 2010 ; LeFevre et al., 2012 ; Schmitt et al., 2015 ; Leroy et al., 2015 ; Leroy et al., 2016 ; Tedoldi et al., 2017 ; Walaszek et al., 2018 ; Flanagan et al., 2018). 16 HAP sont inscrits comme prioritaires d'après l'US EPA (US EPA 2014) et 7 parmi les 16 sont inscrit dans la DCE. En effet, les HAP sont connus pour leur effets cancérigènes, tératogènes et mutagènes sur les organismes (détaillé dans la section 1.4.2.2.3). Les **hydrocarbures** sont également présents dans les eaux de ruissellement de voirie, ainsi, les HAP et les indices hydrocarbures seront également étudiés.

D'autres MPO **émergents** sont également retrouvés dans les eaux de ruissellement, le **bisphénol-A (BPA)** et les familles des **alkylphénols (AP)** et **phtalates (PAE)** (Stachel et al., 2010 ; Björklund, 2010 ; Flanagan et al., 2018 ; Gasperi et al., 2022 ; Beryani et al., 2023). Ces derniers sont souvent associés aux voiries et automobiles (voir partie 1.2.3 ci-dessus), et leurs impacts sur la santé est aujourd'hui avéré : ils sont reconnus par l'ECHA comme étant des **perturbateurs endocriniens (ECHA 2013 ; 2017b ; 2019)**, c'est-à-dire des substances ayant une activité sur le système endocrinien. De plus, deux AP, le nonylphénol (**4-NP**) et l'octylphénol (**4-OP**) et un phtalate, le Di (2-éthylhexyl)phtalate (**DEHP**) sont inscrits dans la liste des substances prioritaires de la DCE. Depuis 2018, l'ECHA a classé le BPA comme « substance extrêmement préoccupante » en tant que perturbateur endocrinien (ECHA, 2018). Ces MPO sont donc préoccupants mais ne sont pas assez étudiés dans les eaux de ruissellement et les ouvrages, c'est pourquoi, ils seront également étudiés afin de mieux les documenter.

La liste des micropolluants retenus pour cette thèse comprend donc des Eléments Trace Métalliques (ETM), des Hydrocarbures Aromatiques polycycliques (HAP), des indices hydrocarbures (HC), le bisphénol-A (BPA), des alkylphénols (AP) et des phtalates (PAE) (Tableau 1.2). Ils sont présentés en détail par la suite.

Tableau 1.2 : Liste des micropolluants étudiés dans le cadre du projet Life Adsorb.

| Micropolluants étudiés | Composé (abréviation) |
|---|--|
| Micropolluants métalliques (ETM) | Cadmium (Cd), chrome (Cr), cuivre (Cu), nickel (Ni), plomb (Pb), zinc (Zn) |
| Indices hydrocarbures C10-C40 (HC) | Indices hydrocarbure : indice C10-C40 ; indice C10-C11 ; indice C11-C12 ; indice C12-C16 ; indice C16-C21 ; indice C21 - C35 ; indice C35-C40 |
| Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) | 16 HAP : naphtalène (Nap), acénaphtylène (Acyl), acénaphtène (Acen), fluorène (F), anthracène (A), phénanthrène (Phen), fluoranthène (Fluo), pyrène (Pyr), benzo(a)anthracène (BaA), chrysène (Chry), benzo(a)pyrène (BaP), benzo(b)fluoranthène (BbF), benzo(k)fluoranthène (BkF), dibenzo(a,h)anthracène (DahA), benzo(g,h,i)pérylène (Bper), indeno(1,2,3-c,d)pyrène (IP) |
| Alkylphénols (AP) | 4-nonylphénol (4-NP), nonylphénol monoéthoxylé (NP ₁ EO), nonylphénol diéthoxylé (NP ₂ EO), nonylphénol monocarboxylé (NP ₁ EC), 4-t-octylphénol (4-OP), octylphénol monoéthoxylé (OP ₁ EO), octylphénol diéthoxylé (OP ₂ EO) |
| Bisphénol A (BPA) | Bisphénol-A (BPA) |
| Phtalates (PAE) | Diméthyl phtalate (DMP), diethyl phtalate (DEP), di-isobutyl phtalate (DiBP), dibutyle phtalate (DBP), bis(2-ethylhexyl) phtalate (DEHP), dinonyl phtalate (DNP) |

Différentes **propriétés physico-chimiques des polluants** sont importantes à considérer car elles jouent un rôle sur leur comportement et donc leur devenir dans l'environnement (Mackay et al., 2006 ; Tissier et al., 2005 ; AgroParisTech, 2023). Elles sont présentées et définies dans l'Annexe 1-2 et seront discutées par la suite pour caractériser les micropolluants.

I-5. Les éléments trace métalliques

I-5.1. Définition

Les ETM sont des éléments dont les atomes sont unis par des liaisons métalliques et possédant une structure cristalline. Ils ont la capacité de perdre des électrons pour former des ions positifs et la capacité de conduire la chaleur et l'électricité. Plusieurs termes sont utilisés dans la littérature, comme métaux lourds ou métalloïdes mais ils ne sont plus utilisés aujourd'hui car ils manquaient de sens concret et n'étaient pas précis (Duffus, 2002). Le terme élément trace métallique est alors préféré (ETM).

Les ETM sont **naturellement** présents dans l'environnement en raison de leur formation dans la croûte terrestre. Depuis leur formation, leur cycle géochimique conduit à une distribution hétérogène des ETM en surface avec des teneurs généralement faibles (Goff et Bonnomet, 2004), on parle alors de fond géochimique (quantité d'ETM naturellement présents dans l'échantillon). Cependant, comme vu dans le 1.2.3, de nombreux ETM sont utilisés en ville et se retrouvent ensuite dans les eaux de ruissellement, ils ont donc également une source **anthropogénique**. Ainsi, les ETM sont présents de façon **ubiquitaire**, en **trace** dans l'environnement.

I-5.2. Propriétés physico-chimiques

Le Tableau 1.3 présente les propriétés des ETM étudiés. Les coefficients d'adsorption des 6 ETM ($\log K_d$) sont compris entre 3,20 et 4,67 (K_d entre 1585 et 46773) montrant une affinité élevée avec la phase solide. Les affinités avec la phase solide sont alors, selon le métal : Pb > Cr > Cu > Cd > Ni et Zn. Cela se répercute sur la répartition entre la phase dissoute et particulaire dans les eaux de ruissellement. En effet, les mesures réalisées par Zgheib (2009) montrent que ces ETM sont majoritairement retrouvés dans la fraction particulaire, selon un ordre similaire à leurs coefficients d'adsorptions. Ainsi, la grande majorité des ETM dans les eaux de ruissellement de voiries sont présents sous forme particulaire (Flanagan et al., 2018).

Tableau 1.3 : Caractéristiques physico-chimiques des métaux (valeur ou min-max). La répartition dissout/particulaire ainsi que le $\log K_d$ ont été déterminés dans des eaux de ruissellement urbain. (a) Zgheib, 2009 ; (b) Sansalone et al., 1996 ; (c) Maniquiz-Redillas et Kim, 2014.

| Composé | Abréviation | N° CAS | Masse molaire (g/mol) | Répartition dissout/particulaire (% particulaire) | Log K_d |
|---------|-------------|-----------|-----------------------|---|--------------------------|
| Plomb | Pb | 7439-92-1 | 207,2 | 100 % (a) | 4,18-4,67 (b) 3,8 (c) |
| Zinc | Zn | 7440-66-6 | 65,4 | 54 - 100 % (a) | 3,49-3,94 (b) 3,9 (c) |
| Cuivre | Cu | 7440-50-8 | 63,6 | 66 - 100 % (a) | 3,64-4,15 (b) 3,5 (c) |
| Cadmium | Cd | 7440-43-9 | 112,4 | 61 - 100 % (a) | 3,54-4,08 (b) 2,5 (c) |
| Chrome | Cr | 7440-47-3 | 52 | 85 - 100 % (a) | 3,89-4,41 (b) 3,4 (c) |
| Nickel | Ni | 7440-02-0 | 58,7 | 61 - 100 % (a) | 3,20-3,48 (b) 3,5 (c) |

I-5.3. Toxicité

Certains ETM sont **essentiels** à faible concentration au développement des organismes vivant car ce sont des oligo-éléments nécessaires aux fonctions biochimiques et physiologiques, tels que le cobalt, le cuivre, le chrome le fer, le magnésium, le manganèse, le nickel ou encore le zinc (WHO, FAO, et IAEA, 1996). Cependant, des concentrations trop importantes en ces mêmes ETM induira des dommages cellulaires et tissulaires entraînant alors des impacts sur les organismes (Tchounwou et al., 2012).

D'autres ETM sont tout simplement toxiques pour les organismes vivants, même à de très faibles concentrations, tels que le cadmium, le plomb, le mercure et l'arsenic. Ce sont donc des ETM **non**

essentiels (Tchounwou et al., 2012). Par exemple, concernant le cadmium, son exposition engendre un endommagement des cellules, par la formation d'espèces réactives de l'oxygène qui provoquent des dommages à l'ADN et perturbent la synthèse des acides nucléiques et des protéines (Mitra, 1984 ; Stohs et Bagchi, 1995). Un autre exemple est le plomb ; un des effets toxiques est le développement de neuropathologie périphérique et ou de néphropathie chronique ou encore d'hypertension (WHO, FAO, et IAEA, 1996).

Une notion importante pour les polluants est leur **biodisponibilité**. Si le métal n'est pas biodisponible - c'est à dire sous une forme chimique ayant la capacité d'être assimilée par les organismes (Newman et Jagoe, 1994) - il ne se sera pas assimilé dans les organismes vivants, et n'aura donc que très peu d'impact. Pour cela, la spéciation du métal est importante à connaître. Sous forme **particulaire** (métal fixé sur des particules), les ETM sont généralement moins biodisponibles. Lorsque le métal est **dissout** en solution, il est alors souvent présent sous forme ionisée (exemple : Zn²⁺) ou bien complexée à des ligands organiques et inorganiques (Goff et Bonnomet, 2004) et deviennent alors plus biodisponible. Selon l'état d'oxydation de l'élément et son degré de complexation, sa toxicologie peut également être impactée (par exemple le Cr IV est plus toxique que le Cr III)

I-5.4. Réglementation et concentrations dans les eaux de ruissellement

La présence des ETM étudiés est réglementée dans les milieux aquatiques naturels. Les seuils réglementaires pour les eaux de surface françaises sont issus de la législation européenne (European Union et Council of the European Union, 2013) et française (MEEDDM, 2010) lorsque la DCE n'indique pas de seuil. Le Tableau 1.4 synthétise les niveaux de contamination minimum et maximum retrouvés dans les eaux de ruissellement de voiries et les normes associées.

Tableau 1.4 : Concentrations totales minimum et maximum (concentrations dissoutes minimum et maximum) en métaux observées dans les eaux de ruissellement de voirie en Europe. (1) Stachel et al. (2010) ; (2) Flanagan et al. (2018) ; (3) Leroy et al. 2016 ; (4) Gasperi et al. (2022). Les normes de qualité environnementales (NQE) associées (MA : moyenne annuelle ; CMA : concentration maximale admissible) sont fournies. **Norme DCE 2013** (2013/39/UE), **Norme française** (23/01/2010, MEEDDM 2010). Les métaux avec * ont des NQE définies pour la fraction biodisponible. Pour le cadmium, la DCE a défini des NQE différentes selon la dureté de l'eau en mg CaCO₃/L : classe a : < 40 ; classe b : de 40 à < 50 ; classe c : de 50 à < 100 ; classe d : de 100 à < 200 ; classe e : ≥ 200.

| Métal | Concentrations (µg/L) min-max totales (min-max dissout) mesurées | NQE-MA (µg/L) | NQE-CMA (µg/L) |
|-----------------|--|---------------|----------------|
| Plomb * | 13-99 (1) | 1,2 | 14 |
| | 15,8-139,2 (0,19-0,90) (2) | | |
| | 0-179 (3) | | |
| | 5,3-98 (4) | | |
| Zinc | 210-1300 (1) | 7,8 | - |
| | 236-1653 (16-66) (2) | | |
| | 34-497 (3) | | |
| | 36-932 (4) | | |
| Cuivre | 91-760 (1) | 1 | - |
| | 98-546 (13,5-42,2) (2) | | |
| | 0-136 (3) | | |
| | 15-570 (4) | | |
| Cadmium | 0,16-1,3 (1) | < 0, 08 | < 0, 45 |
| | 0,11-0,72 (<0,1) (2) | (a) ; 0,08 | (a) ; 0,45 |
| | <0,3 (3) | (b) ; 0,09 | (b) ; 0,6 |
| | 0,1-1 (4) | (c) ; 0,15 | (c) ; |
| | | (d) ; 0,25 | 0,9 (d) ; |
| | (e) | 1,5 (e) | |
| Chrome | 8,6-21 (1) | 3,4 | - |
| | 12,3-83,3 (<0,1-1,83) (2) | | |
| | 3,9-84 (4) | | |
| Nickel * | 4,2-18 (1) | 4 | 34 |
| | 1,9-38,9 (0,57-1,45) (2) | | |
| | 2,4-32 (4) | | |

Cette synthèse indique que le Zn est le métal le plus concentré dans les eaux de ruissellement de voiries (entre 34 et 1653 µg/L), suivi du Cu (entre < Limite de Quantification LQ et 760 µg/L) puis du Pb (entre < LQ et 179 µg/L). Le Cr et Ni sont moins concentrés et le Cd est le métal ayant généralement les plus faibles concentrations dans les eaux de ruissellement de voiries (entre < LQ et 1,3 µg/L) (Stachel *et al.*, 2010 ; Leroy *et al.*, 2016 ; Flanagan *et al.*, 2018 ; Gasperi *et al.*, 2022). Il est notable que les concentrations variaient selon les études donc selon les bassins versants captés (types de routes, fréquentations des routes etc), mais les ordres de grandeur restaient similaires. En comparant ces valeurs aux NQE, les concentrations mesurées en différents ETM étaient presque systématiquement supérieures aux NQE-MA. Le zinc, plomb et cuivre dépassaient systématiquement les NQE-MA.

L'étude de Flanagan *et al.* (2018) est la seule ayant mesurée les fractions particulaire et dissoute dans des eaux de ruissellement de voirie. Le cuivre, plomb et zinc étaient fortement associés à la phase particulaire (médiane de 92 ; 99 et 95 % respectivement), ils ont relié cela à la forte concentration en MES dans les eaux.

I-6. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques

I-6.1. Définition

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des molécules organiques (composées de carbone et d'hydrogène) neutres et apolaires, composées de minimum deux cycles aromatiques. Selon le nombre de cycles, les HAP sont classés en HAP légers (jusqu'à trois cycles) ou lourds (supérieur à trois cycles).

Leur toxicité (détaillée dans le I-6.3) a conduit à la mise en place d'une réglementation ; dès 1976, **16 HAP** ont été retenus par l'Agence Américaine de Protection de l'Environnement (US EPA, 1976) comme étant des polluants prioritaires à surveiller et réguler. Ils ont donc été inclus dans la « priority pollutant list », composée de 129 substances (US EPA, 2014). La structure chimique de ces 16 HAP est présentée sur la Figure 1.3, ce sont les HAP qui seront étudiés en détails.

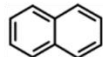
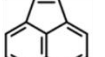
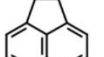
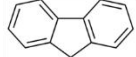
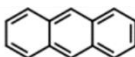
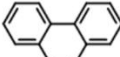
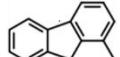
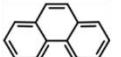
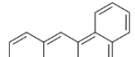
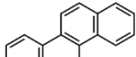
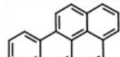
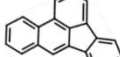
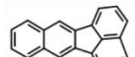
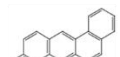
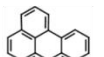
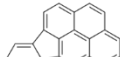
| | | | |
|--|---|---|---|
|  Naphthalène (Nap) |  Acénaphthylène (Acyl) |  Acénaphthène (Acen) |  Fluorène (F) |
|  Anthracène (A) |  Phénanthrène (Phen) |  Fluoranthène (Fluo) |  Pyrène (Pyr) |
|  Benzo(a)anthracène (BaA) |  Chrysène (Chry) |  Benzo(a)pyrène (BaP) |  Benzo(b)fluoranthène (BbF) |
|  Benzo(k)fluoranthène (BkF) |  Dibenzo(a,h)anthracène (DahA) |  Benzo(g,h,i)peryène (Bper) |  Indeno(1,2,3-cd)pyrène (IP) |

Figure 1.3 : Structure des 16 HAP prioritaires (et leurs abréviations). Le nombre de cycles augmente avec le sens de lecture classique (gauche à droite, haut en bas).

Les HAP peuvent avoir plusieurs origines (Neff, 1980). Ils sont d'une part retrouvés de façon **naturelle** dans l'environnement, dans le pétrole, huiles et charbon mais également dans la combustion incomplète de matières organiques tels que le bois (feux de forêt) ou encore lors d'éruptions volcaniques. Ils ont également une source **anthropique**, lors de la combustion incomplète des produits pétroliers, du charbon ou encore du bois ou lors de fuites de pétrole directement. L'utilisation massive

de produits pétroliers et de bois fait que les HAP sont ubiquistes dans l'environnement et sont prédominants en zones urbaines (automobiles, industries chauffage). Ainsi, on retrouvera les HAP dans les eaux de ruissellement urbains via le dépôt atmosphérique ou le lessivage des surfaces contaminées.

I-6.2. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques des HAP varient selon leur structure et donc leur masse molaire, qui augmente avec l'augmentation du nombre de cycles aromatiques. Les noyaux aromatiques rendent les HAP très hydrophobes, ainsi, plus le nombre de noyau augmente, plus l'hydrophobicité augmente également (dès le deuxième HAP, les molécules sont considérées comme hydrophobes, avec un $K_{ow} > 4$). Cela est bien visible sur le Tableau 1.5 où le $\log K_{ow}$ et le $\log K_{oc}$ augmentent avec le nombre de cycles, passant par exemple pour le $\log K_{oc}$ de 3,1 à 6,15. Cela montre que ces composés s'associeront préférentiellement à la phase solide et aux matières organiques, et seront peu mobile en présence de phase solide ($K_{oc} > 2,7$). En effet, à partir du benzo(a)anthracène (4 cycles aromatiques), plus de 90 % du composé est retrouvé en phase particulaire dans les eaux de ruissellement (Zgheib, 2009). A l'inverse, la solubilité et la volatilité (pression de vapeur et constante de Henry) de ces composés diminue avec le nombre de cycle aromatique. La solubilité devient très faible à partir du benzo(a)anthracène également (solubilité inférieure à 0,01 mg/L), ils sont alors considérés comme insolubles (solubilité $< 0,1$). Enfin, les valeurs de pression de vapeur et de constante de Henry font du naphthalène le seul composé assez volatil et dès le fluorène, les HAP sont très faiblement volatils ($P_{vap} > 1$ et $K_h < 10$) à non volatils ($K_h < 0,1$).

Contrairement aux métaux, les HAP sont des molécules organiques donc ayant une nature **destructive**. En effet, ils sont biodégradables dans l'environnement sous l'action des microorganismes, les HAP légers seront généralement plus rapidement biodégradés que les HAP lourds qui auront tendance à s'accumuler dans l'environnement (Haritash et Kaushik, 2009).

I-6.3. Toxicité

Dans un premier temps, les fortes valeurs de K_{ow} indiquent que les HAP ont un caractère lipophile, ainsi ils tendent à s'accumuler dans les organismes vivants dans les tissus lipidiques. De nombreux HAP sont mutagènes, cancérigènes, tératogènes et immunotoxiques pour les organismes vivants y compris les humains (Baird et al., 2002 ; Rengarajan et al., 2015 ; Bolden et al., 2017 ; Patel et al., 2020). Le benzo(a)pyrène est considéré comme l'un des HAP les plus cancérigènes, il est généralement utilisé comme un marqueur pour l'évaluation des risques (notamment dans la DCE) (Patel et al., 2020). L'exposition à long terme des HAP peut ainsi induire des cancers des poumons, de la peau, de l'œsophage, du colon, du pancréas, de la vessie et des seins (Rengarajan et al., 2015). Les HAP ont également des effets sur le système reproducteur ; les HAP peuvent perturber les hormones et leur régulation, altérer l'utérus, changer la qualité du sperme et les fonctions testiculaires ou encore impacter les naissances (faible masse, naissance prématurée, malformations du cœur (Patel et al., 2020). Enfin, les HAP peuvent également avoir des effets sur l'immunologie, par le développement d'allergies et de maladies auto-immunes (Bolden et al., 2017).

Un aspect important est que la dégradation des HAP peut induire la formation de métabolites pouvant être plus toxiques que les molécules initiales (Shuttleworth et Cerniglia, 1995). La métabolisation des HAP les rend ainsi plus hydrophiles, les métabolites produits peuvent alors se fixer sur des composants cellulaires (protéines, ADN) et modifier l'ADN, induisant alors des effets mutagènes et cancérigènes (Baird et al., 2002).

I-6.4. Réglementation et concentrations dans les eaux de ruissellement

Concernant la réglementation européenne, huit HAP sont inscrits dans la DCE (European Union et Council of the European Union, 2013), il s'agit des composés en gras dans le Tableau 1.6 : naphthalène, anthracène, fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(g,h,i)pérylène et indeno(1,2,3-cd)pyrène. Les trois premiers HAP ont des NQE qui leurs sont propres, tandis que pour les autres HAP, les NQE sont définies par rapport au benzo(a)pyrène (mesure uniquement de cet HAP, marqueur des autres HAP cités).

Tableau 1.5 : Caractéristiques physico-chimiques des 16 HAP (valeur ou min-max). La solubilité, constante de Henry et pression de vapeur sont données pour une température de 25°C. (a) ECHA database, 2023 ; (b) Zgheib 2009 ; (c) INERIS database, 2023 ; (d) PubChem Database, 2023.

| Nom de la molécule | Abréviation | Nombre de cycle | Formule chimique brute | N° CAS | Masse molaire (g/mol) | S _w (mg/L) | P _{vap} (Pa) | K _h (Pa.m ³ /mol) | Répartition dissous/particulaire (% particulaire) | Log K _{ow} | Log K _{oc} |
|------------------------|-------------|-----------------|------------------------|----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---|---|---------------------|---------------------|
| Naphtalène | Nap | 2 | C10H8 | 91-20-3 | 128,2 | 31,8 (c) | 10,5(c) | 48,9 (c) | 35 (b) | 3,7 (c) | 3,10 (c) |
| Acénaphthylène | Acyl | | C12H8 | 208-96-8 | 152,2 | 3,93 (d) | 6,68 (c) | - | 80 (b) | 3,94 (c) | 3,7 (c) |
| Acénaphthène | Acen | | C12H10 | 83-32-9 | 154,2 | 3,7 (c) | 0,28 (c) | 14,7 (c) | 65 (b) | 3,92 (c) | 3,7 (c) |
| Fluorène | F | 3 | C13H10 | 86-73-7 | 166,2 | 1,98 (c) | 0,09 (c) | 9,2 (c) | 45 (b) | 4,18 (c) | 3,9 (c) |
| Anthracène | A | | C14H10 | 120-12-7 | 178,2 | 0,04 (c) | 0,001 (a) | 5,04 (c) | 85 (b) | 4,45 (c) | 4,47 (c) |
| Phénanthrène | Phen | | C14H10 | 85-01-8 | 178,2 | 1,2 (c) | 0,091 (c) | 3,98 (c) | 70 (b) | 4,57 (c) | 4,33 (c) |
| Fluoranthène | Fluo | | C16H10 | 206-44-0 | 202,3 | 0,26 (c) | 0,0012 (c) | 1,5 (c) | 75 (b) | 5,13 (c) | 5,16 (c) |
| Pyrène | Pyr | | C16H10 | 129-00-0 | 202,3 | 0,13 (c) | 0,0011 (c) | 0,0011 (c) | 80 (b) | 4,88 (c) | 4,83 (c) |
| Benzo(a)anthracène | BaA | 4 | C18H12 | 56-55-3 | 228,3 | 0,01 (c) | 6,65E-07 (c) | 0,02 (c) | 95 (b) | 5,76 (c) | 5,25 (c) |
| Chrysène | Chry | | C18H12 | 218-01-9 | 228,3 | 0,002 (c) | 8,4E-05 (c) | 9,5 (c) | 95 (b) | 5,86 (c) | 5,12 (c) |
| Benzo(a)pyrène | BaP | | C20H12 | 50-32-8 | 252,3 | 0,0038 (c) | 6,52E-7 (c) | - | 95 (b) | 6,07 (c) | 6,70 (c) |
| Benzo(b)fluoranthène | BbF | 5 | C20H14 | 205-99-2 | 252,3 | 0,012 (c) | 6,7E-05 (c) | 0,05 – 15,6 (c) | 99 (b) | 6,04 (c) | 5,18-5,80 (c) |
| Benzo(k)fluoranthène | BkF | | C20H12 | 207-08-9 | 252,3 | 0,00076 (c) | 1,3E-07 (c) | 0,044 (c) | 90 (b) | 6,57 (c) | 5,90 (c) |
| Dibenzo(a,h)anthracène | DahA | | C22H14 | 53-70-3 | 278,3 | 0,0005 (c) | 1,3E-08 (c) | 0,0048 (c) | 95 (b) | 6,7 (c) | 6,15 (c) |
| Benzo(g,h,i)pérylène | BPer | | C22H12 | 191-24-2 | 276,3 | 0,00026 (c) | 1,4E-08 (c) | 0,014 (c) | 95 (b) | 6,5 (c) | 7,38 (c) |
| Indeno(1,2,3-cd)pyrène | IP | 6 | C22H12 | 193-39-5 | 276,3 | 0,0005 (c) | 1,30E-08 (c) | 0,029 (c) | 95 (b) | 6,6 (c) | 6,15 (c) |

Tableau 1.6 : Concentrations totales minimum et maximum (concentrations dissoutes min et max) en HAP et HCT observées dans les eaux de ruissellement de voirie en Europe. (1) Stachel et al. (2010) ; (2) Flanagan et al. (2018) ; (3) Leroy et al. (2016) ; (4) Gasperi et al. (2022). Les normes de qualité environnementales (NQE) associées (MA : moyenne annuelle ; CMA : concentration maximale admissible) sont fournies. **Norme DCE 2013 (2013/39/UE)**. * : Les concentrations sont celles du benzo(a)pyrène, seul HAP mesuré comme marqueur.

| HAP | Concentrations (µg/L) min-max totales (min-max dissout) mesurées | NQE-MA (µg/L) | NQE-CMA (µg/L) |
|-------------------------------|--|--------------------------|------------------------|
| Naphthalène | <0,03 (1) 0,021-0,485 (<0,010-0,027) (2) 0,010-0,152 (4) | 2 | 130 |
| Acénaphthylène | 0,033-0,286 (<0,010) (2) 0,010-0,140 (4) | - | - |
| Acénaphthène | 0,013-0,045 (<0,010) (2) 0,004-0,037 (4) | - | - |
| Fluorène | 0,014-0,058 (<0,010-0,024) (2) 0,005-0,059 (4) | - | - |
| Anthracène | <0,03-0,11 (1) 0,031-0,337 (<0,010) (2) 0,012-0,143 (4) | 0,1 | 0,1 |
| Phenanthrène | 0,11-0,6 (1) 0,102-0,594 (0,011-0,100) (2) 0,3-10,5 (3) 0,065-0,522 (4) | - | - |
| Fluoranthène | 0,27-1,1 (1) 0,180-1,601 (0,013-0,032) (2) 0,075-1,368 (4) | 0,0063 | 0,12 |
| Pyrène | 0,21-0,93 (1) 0,205-2,298 (0,015-0,041) (2) 0,128-1,573 (4) | - | - |
| Benzo(a)anthracène | 0,05-0,18 (1) 0,078-0,611 (<0,010) (2) 0,024-0,390 (4) | - | - |
| Chrysène | 0,11-0,47 (1) 0,111-0,895 (<0,010) (2) 0,039-0,690 (4) | - | - |
| Benzo(a)pyrène | 0,15-0,65 (1) 0,079-0,698 (<0,010) (2) 0,10-1,0 (3) 0,023-0,282 (4) | 1,7 × 10 ⁻⁴ | 0,27 |
| Benzo(b)fluoranthène | 0,07-0,33 (1) 0,159-1,627 (<0,010) (2) 0,056-0,837 (4) | 1,7 × 10 ⁻⁴ * | 0,017 |
| Benzo(k)fluoranthène | <0,03-0,11 (1) 0,059-0,485 (<0,010) (2) 0,019-0,219 (4) | 1,7 × 10 ⁻⁴ * | 0,017 |
| Dibenzo(a,h)anthracène | 0,035-0,192 (<0,010) (2) 0,008-0,115 (4) | - | - |
| Benzo(g,h,i)peryène | 0,1-0,33 (1) 0,105-0,966 (<0,010) (2) 0,037-0,665 (4) | 1,7 × 10 ⁻⁴ * | 8,2 × 10 ⁻³ |
| Indeno(1,2,3-cd)pyrène | 0,04-0,17 (1) 0,067-0,764 (<0,010) (2) 0,025-0,329 (4) | 1,7 × 10 ⁻⁴ * | - |
| Σ16 HAP | 1,341-11,495 (<0,170-<0,322) (2) 2,0-19,0 (3) 0,604-7,481 (4) | - | - |
| HCT (mg/L) | 0,29-3,96 (<0,2) (2) < LQ-1,32 (3) | - | - |

La quantification des HAP dans les eaux de ruissellement passe par la mesure de la somme des 16 HAP ou de chaque HAP individuellement. Le Tableau 1.6 donne les concentrations en HAP et hydrocarbures totaux mesurées dans les eaux de ruissellement de voiries (Stachel et al., 2010 ; Leroy et al., 2016 ; Flanagan et al., 2018 ; Gasperi et al., 2022). Premièrement, les ordres de grandeurs sont

bien plus faibles que pour les ETM (de l'ordre du ng/L), aucun HAP individuel ne dépassait 2,30 µg/L et la somme des 16 HAP variait entre 0,60 et 19 µg/L. Puis, comme les ETM, les concentrations variaient selon les études, liés aux bassins versants différents, mais certains HAP étaient généralement plus concentrés : phénanthrène, fluoranthène, pyrène, chrysène, benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène et benzo(g,h,i)pérylène, où les valeurs maximales dépassent 0,5 µg/L. Enfin, en comparant les concentrations avec les NQE, le naphthalène est le seul HAP ayant des valeurs mesurées dans les eaux de ruissellement de voiries inférieures à sa NQE-MA. Cela indique que ces eaux de voiries peuvent dégrader les milieux naturels récepteurs. Enfin, les HCT étaient plus concentrés, de l'ordre du mg/L ; les concentrations variaient entre < LQ et 3,96 mg/L.

I-7. Les alkylphénols et le bisphénol-A

I-7.1. Définition

Les AP sont des composés organiques xénobiotiques d'origine exclusivement **anthropique** constitués d'un groupement phénolique et d'une chaîne carbonée (chaîne alkyle) avec un nombre d'atomes de carbone variable. Les AP dit « simples » sont les para-nonylphénols (4-NP, ensemble d'isomères de tous les AP composés de 9 carbones au sein de la chaîne d'alkyle ; il y aurait plus de 211 nonylphénols d'après *Guenther et al. (2006)* et le para-t-octylphénol (4-OP, correspondant à une seule molécule) notamment. Ils sont obtenus par synthèse grâce à une réaction d'alkylation entre un alcane et un phénol. Leur structure chimique est représentée sur la Figure 1.4.

Ces AP sont d'une part utilisés pour la production de résines phénoliques, de résines époxydes ou encore de résines formophénoliques (*Lamprea et al., 2017, Annexe 1-3*), mais la majorité (d'après *Cladière, 2012, 54 à 60 %*) est utilisée afin de fabriquer des **alkylphénols éthoxylés** (APnEO), une famille de surfactants non anioniques (*Bergé et al., 2012*). Les APnEO sont produits grâce à une réaction d'éthoxylation, qui est la réaction d'un AP avec un ou plusieurs oxydes d'éthylène et les plus synthétisés sont les éthoxylates de nonylphénol (NPnEO) et les éthoxylates d'octylphénol (OPnEO) (*Bergé et al., 2012*). Des exemples d'NPnEO et OPnEO (ceux étudiés au cours de la thèse) sont représentés sur la Figure 1.4. Les NPnEO et OPnEO sont retrouvés dans les détergents industriels et domestiques, les papiers, les peintures, les produits phytosanitaires, les textiles, les tanneries, les agents mouillants etc (*Lamprea et al., 2017, Annexe 1-3*).

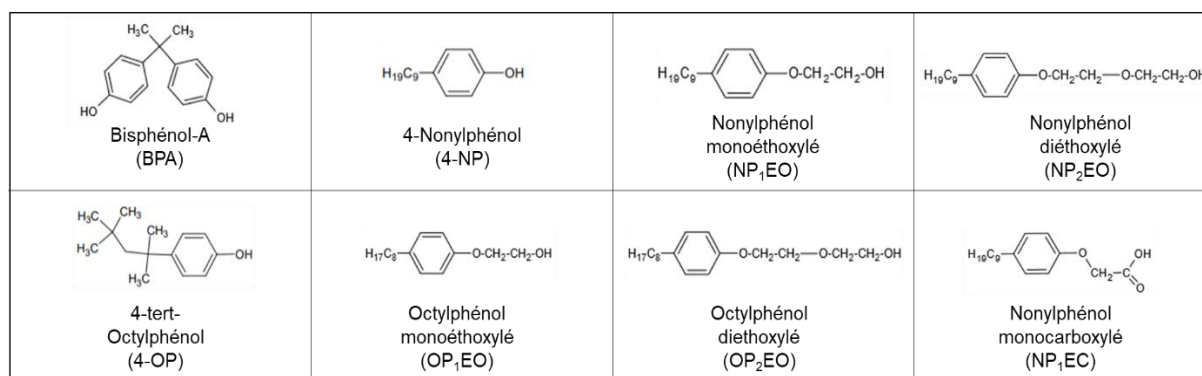


Figure 1.4 : Structure des alkylphénols et du bisphénol-A (et leurs abréviations).

Le 4,4'-dihydroxi-2,2'-diphénylpropane ou encore 4-[2-(4-hydroxyphényl)propan-2-yl]phenol (nom UPIAC), appelé **Bisphénol A (BPA)** est un composé organique d'origine exclusivement **anthropique** également, de la famille des composés aromatiques. Ce composé est issu de la synthèse entre deux phénols et une acétone (*Corrales et al., 2015*) ; la formule chimique est représentée sur la Figure 1.4. Le BPA ne correspond qu'à un unique composé.

Ce composé est utilisé pour la confection de plastiques et de résines essentiellement mais également comme antioxydant et inhibiteur dans la production de PCV, comme durcisseur de peintures, ou encore comme antioxydant dans la matrice de polymère de pneus (*Lamprea et al., 2017, Annexe 1-3*). La

fabrication de plastiques polycarbonates et la fabrication de résines époxydes représentent néanmoins plus de 97 % de la consommation de BPA en France (Cladière, 2012).

I-7.2. Propriétés physico-chimiques

Concernant les propriétés physico-chimiques de ces composés, le Tableau 1.7 synthétise ces valeurs. Le BPA est un composé modérément soluble (300 mg/L donc entre 100 et 1000 mg/L) contrairement aux AP qui ont une légère solubilité (solubilités généralement inférieures à 10 mg/L). Les très faibles valeurs de pression de vapeur et de constante de Henry font du BPA un composé très peu volatil tandis que ces valeurs chez les AP sont plus élevées, ils sont considérés comme légèrement volatiles, le 4-NP étant l'AP le plus volatil (données non disponibles pour tous les AP présentés). Concernant l'hydrophobicité de ces composés, le log K_{ow} du BPA varie entre 3,3 et 3,4 tandis que chez les AP, le log K_{ow} varie entre 3,7 et 5,4 ; le BPA est donc considéré comme modérément hydrophobe (log K_{ow} entre 2 et 4) et les AP sont hydrophobes. Les AP ont donc une plus forte affinité avec la phase solide et se retrouveront préférentiellement dans la phase particulaire des eaux de ruissellement. Cela est également visible avec le log K_{oc} ; avec des valeurs toujours supérieures à 2,7 le BPA et les AP sont considérés comme peu mobiles dans les sols. Le BPA présente un log K_{oc} inférieur à tous les AP donc il reste le composé le plus mobile. Les AP ont, eux, des log K_{oc} autour des valeurs des HAP à quatre cycles.

La répartition dissout/particulaire dans les eaux de ruissellement a été étudiée ; les mesures de Gasperi *et al.* (2014) ont montré que 18 % du BPA contre entre 14 et 40 % d'AP (le 4-NP étant le plus retrouvé dans la phase particulaire) étaient mesurés dans la fraction particulaire, mais Flanagan *et al.* (2018) ont montré que dans les eaux de ruissellement de voirie, 32, 71, 77, 90, 7 et 18 % du BPA, 4-OP, 4-NP, NP₁EO, NP₁EC et NP₂EO respectivement présents dans les eaux de ruissellement étaient présent sous forme particulaire. Ces pourcentages varient donc beaucoup selon les eaux de ruissellement mais le BPA reste toujours la molécule ayant le moins d'affinité avec la phase particulaire.

Enfin, comme les HAP, la nature destructive de ces composés conduit à leur dégradation. Celle-ci sera détaillée dans la partie III-2.4 de cette synthèse bibliographique.

I-7.3. Toxicité

Les AP et le BPA sont considérés comme des perturbateurs endocriniens en agissant sur l'activité oestrogénique (ECHA, 2017b ; 2013). En effet, la structure chimique du BPA lui confère des propriétés oestrogéniques (similaires à celle des œstrogènes) (ANSES, 2013). Ainsi, des dysfonctionnements des ovaires et utérus chez la femme et des dysfonctionnement sexuels chez les hommes ont été montrés (Petra, 2019) par le dysfonctionnement des fonctions du corps. Le BPA peut causer du stress oxydatif, inhiber la méthylation de l'ADN, directement affecter les tissus ou les cellules, causer de la toxicité reproductive ou encore de la neurotoxicité (Xing *et al.*, 2022). Les conséquences sont alors des maladies comme le diabète, l'obésité, le changement des fonctions thyroïdiennes, des maladies reproductives et même des cancers (Xing *et al.*, 2022).

Concernant les AP, la première étude ayant montré un potentiel oestrogénique date de 1938 (Soares *et al.*, 2008). Le 4-NP a montré des capacités à interférer avec le système de régulation par la capacité de déclencher une toxicité respiratoire dans les cellules ou encore de produire des aberrations chromosomiques (Soares *et al.*, 2008). Les effets du 4-NP sont donc très divers et imprévisibles. Les NPnEO à chaîne courte ont moins d'effets toxicologiques que le 4-NP, cependant ils sont également considérés comme perturbateurs endocriniens car ils ont des effets sur l'activité oestrogénique (ECHA, 2013). Moins d'études existent concernant les NPnEO à chaîne longue, mais elles ont montré que plus la chaîne s'allongeait, moins les activités oestrogéniques étaient visibles (ECHA, 2013).

La toxicité de ces composés à de faibles concentration a donc été montrée à de nombreuses reprises en adhérant aux récepteurs des œstrogènes, et les produits de dégradation des APnEO (4-NP et 4-OP) sont généralement plus toxiques que la molécule mère (Veillette 2018; Sayed *et al.* 2019).

Tableau 1.7 : Caractéristiques physico-chimiques du bisphénol-A et des alkylphénols (valeur ou min-max). La solubilité, constante de Henry et pression de vapeur sont données pour une température de 25°C. (a) INERIS database (2023) ; (b) Gasperi et al. (2014) ; (c) Bergé et al. (2012); (d) ECHA (2012) ; (e) Priac et al. (2017) (f) ECHA database (2023) ; (g) Flanagan et al. (2018).

| Famille | Nom de la molécule | Abréviation | Formule chimique brute | N° CAS | Masse molaire (g/mol) | S _w (mg/L) | P _{vap} (Pa) | K _h (Pa.m ³ /mol) | Répartition dissous/particulaire (% particulaire) | Log K _{ow} (min-max ou valeur unique) | Log K _{oc} (min-max ou valeur unique) |
|-------------------|---------------------------|-------------|------------------------|------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|---|---|--|--|
| Alkylphénols (AP) | Bisphénol-A | BPA | C15H16O2 | 80-05-7 | 228,3 | 300 (a) | 5,3E-06 (a) | 4,03E-06 (a) | 18 (b) 32 (g) | 3,3 - 3,4 (a) | 2,85 (a) |
| | 4-Nonylphénol | 4-NP | C15H24O | 84852-15-3 | 220,3 | 5,7 (f) | 0,3 (a) | 11,02 (a) | 40 (b) 77 (g) | 5,4 (f) | 4,70-5,60 (c) |
| | Nonylphénol monoéthoxylé | NP1EO | C17H28O2 | 27986-36-3 | 264,4 | 3,02 (c) | - | - | 39 (b) 90 (g) | 4,17 (c) | 5,46 (c) |
| | Nonylphénol diéthoxylé | NP2EO | C19H32O3 | 27176-93-8 | 308,5 | 3,4 (c) | - | - | 29 (b) 70 (g) | 4,21 (c) | 5,18 (c) |
| | 4-tert-Octylphénol | 4-OP | C14H22O | 140-66-9 | 206,3 | 5 (a) | 0,064 (a) | 0,699 (a) | 45 (b) 71 (g) | 3,7-5,3(a) | 3,44 - 4,30 (a) |
| | Octylphénol monoéthoxylé | OP1EO | C16H26O2 | 2315-67-3 | 250,4 | 8,0 (e) | - | - | 14 (b) | 4,15-4,99 (d) | 3,26-4,09 (d) |
| | Octylphénol diéthoxylé | OP2EO | C18H30O3 | 2315-61-9 | 294,4 | 5,16 (d) - 13,2 (e) | - | - | 32 (b) | 4,59 (d) | 3,02 (d) |
| | Nonylphénol monocarboxylé | NP1EC | C17H26O3 | 3115-49-9 | 278,3 | 40 (f) | 0,03 (f) | - | - | 4,12 (c) | - |

I-7.4. Réglementation et concentrations dans les eaux de ruissellement

Le Tableau 1.8 montre les NQE ainsi que les concentrations en BPA et AP mesurées dans les eaux de ruissellement de voirie. Premièrement, étant des MPO émergents, on se rend compte que moins de réglementations encadrent ces composés. Seuls le 4-NP et 4-OP ont une norme définie (*European Union et Council of the European Union, 2013*), bien qu'ils soient tous aujourd'hui considérés comme des perturbateurs endocriniens. Le processus de réglementation du BPA est long. Après de nombreuses années, en 2017, le BPA a été inscrit comme candidat sur la liste des substances extrêmement préoccupantes en raison de ses propriétés reprotoxiques puis en tant que perturbateur endocrinien (*ECHA, 2017*). Cependant, cette substance n'est pas encore inscrite dans la DCE à ce jour, il n'y a donc pas de NQE associées et elle n'est pas suivie dans les eaux de surface.

Tableau 1.8 : Concentrations totales minimum et maximum (concentrations dissoutes minimum et maximum) en alkylphénols et bisphénol-A observées dans les eaux de ruissellement de voirie en Europe. (1) Stachel et al., 2010 ; (2) Björklund 2010; (3) Bressy 2010; (4) Flanagan et al. 2018; (5) Gasperi et al. 2022; (6) Beryani et al. 2023), et normes de qualité environnementales (NQE) associées (MA : moyenne annuelle ; CMA : concentration maximale admissible). **Norme DCE 2013** (2013/39/UE). Les eaux de ruissellement de voirie ont uniquement été mises dans ce tableau lorsque plusieurs eaux de ruissellement étaient étudiées.

| Famille | Composé | Abréviation | Concentrations (µg/L) min-max totales (min-max dissout) mesurées | NQE-MA (µg/L) | NQE-CMA (µg/L) |
|--------------------------------|--------------------------|---------------------------------|--|---------------|----------------|
| Alkylphénols (AP) | Bisphénol-A | BPA | 0,24-2,5 (1) | - | - |
| | | | 0,234-0,964 (0,066-0,697) (4) | | |
| | 4-Nonylphénol | 4-NP | 0,148-1,657 (5) | 0,3 | 2 |
| | | | 0,247-1,179 (6) | | |
| | | | 0,17-3,6 (1) | | |
| | | | 1,2 (2) | | |
| | Nonylphénol monoéthoxylé | NP1EO | 1,5-1,9 (3) | - | - |
| | | | 0,863-5,818 (0,100-0,752) (4) | | |
| | | | 0,099-3,375 (5) | | |
| | Nonylphénol diéthoxylé | NP2EO | <0,166-1,19 (6) | - | - |
| 1,1 (2) | | | | | |
| 0,116-1,294 (<0,031-0,628) (4) | | | | | |
| 4-tert-Octylphénol | 4-OP | 0,034-0,668 (5) | 0,1 | - | |
| | | <0,18 (6) | | | |
| | | 2 (2) | | | |
| Octylphénol monoéthoxylé | OP1EO | 0,099-2,279 (<0,062-0,858) (4) | - | - | |
| | | 0,040-0,719 (5) | | | |
| | | <2,54 (6) | | | |
| Octylphénol diéthoxylé | OP2EO | 0,15-1,9 (1) | - | - | |
| | | 0,11-0,21 (3) | | | |
| | | 0,235-1,527 (0,033-0,224) (4) | | | |
| Nonylphénol monocarboxylé | NP1EC | 0,056-0,780 (5) | - | - | |
| | | <0,041-0,338 (6) | | | |
| | | 0,022-0,298 (<0,017-0,291) (4) | | | |
| Nonylphénol monoéthoxylé | NP1EO | 0,012-0,159 (5) | - | - | |
| | | <0,024 (6) | | | |
| | | <0,007-0,056 (<0,006-0,022) (4) | | | |
| Nonylphénol diéthoxylé | NP2EO | 0,003-0,070 (5) | - | - | |
| | | <0,45 (6) | | | |
| | | 0,049-0,606 (0,046-0,587) (4) | | | |
| Nonylphénol monoéthoxylé | NP1EO | 0,025-0,447 (5) | - | - | |

Concernant les concentrations retrouvées dans les eaux de ruissellement de voirie, un nombre plus faible d'études a été trouvé contrairement aux ETM puis aux HAP. Ces études révèlent d'une part que comme pour les HAP, les concentrations sont plutôt de l'ordre du ng/L et d'autre part que le 4-NP (entre 0,099 et 5,82 µg/L), puis le BPA (entre 0,148 et 2,5 µg/L), puis le 4-OP (entre 0,056 et 1,9 µg/L) sont les composés retrouvés en plus grande concentration dans les eaux de voirie, les APnEO sont moins fréquemment concentrés même si le NP1EO était l'APnEO le plus concentré (entre 0,040 et 2,28

µg/L). Une des raisons qui sera développée dans le III-2 est que les APnEO se dégradent en 4-NP et 4-OP (John et White, 1998). De plus, ces études montrent également que les concentrations les plus faiblement quantifiées en 4-OP et 4-NP dépassent presque toujours les NQE-MA associées. Les valeurs les plus élevées de 4-NP dépassent la NQE-MA de 4 à 19 fois. Pour le BPA, bien qu'il n'y ait pas de normes associées, l'INERIS a défini sa concentration prévisible sans effet (PNEC) dans les eaux douces à 1,6 µg/L (INERIS database, 2023), certaines valeurs dépassent ce seuil. La NORMAN Ecotoxicology Database (2023) a également défini sa PNEC dans les eaux douces à 0,24 µg/L ce qui est encore plus faible.

I-8. Les phtalates (PAE)

Les **Phtalates (PAE)** ou bien esters d'acide phtalique sont des composés organiques d'origine exclusivement **anthropique** constitués d'un noyau benzénique et de deux groupements ester dont la taille de la chaîne alkyle peut varier. La Figure 1.5 présente les PAE les plus étudiés dans l'environnement ainsi que leur structure chimique. Pour classer les PAE, la **taille des chaînes alkyle** est utilisée ; les PAE ayant moins de 8 atomes de carbone sont considérés comme des PAE à chaînes courtes et ceux en ayant 8 ou plus sont des PAE à longues chaînes (ANSES, 2015). Ainsi, le diméthyl phtalate (DMP), diethyl phtalate (DEP), di-isobutyl phtalate (DiBP), dibutyle phtalate (DBP) et bis(2-ethylhexyl) phtalate (DEHP) sont des PAE à chaînes courtes tandis que le Dinonyl phtalate (DNP) est un PAE à longues chaînes.

Les phtalates sont produits pour une grande variété d'utilisation depuis les années 1960 et le **DEHP** est le PAE le plus produit dans le monde (Deshayes, 2015). Ils sont essentiellement utilisés comme **additif plastifiant** dans la fabrication de polymères, notamment le PVC. On les retrouve également dans les adhésifs, les revêtements de sol en vinyle, les huiles lubrifiantes, les solvants et de nombreux autres objets (INSERM, 2011). Le DEHP est le PAE le plus réglementé.

En raison d'une **panne d'appareil**, les PAE **n'ont pas pu être analysés** et donc discutés dans ce manuscrit. La synthèse bibliographique qui a été réalisée concernant cette famille a donc été déplacée en Annexe 1-4. Le lecteur souhaitant se renseigner sur cette famille de MPO peut donc y avoir accès.

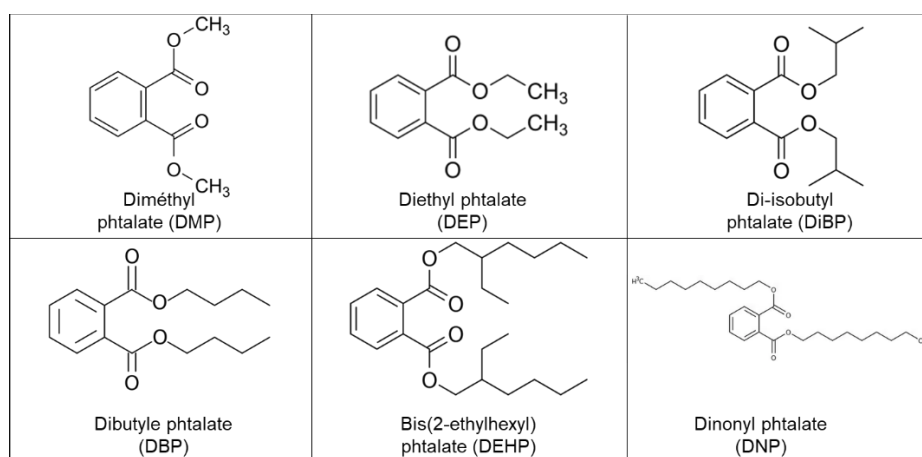


Figure 1.5 : Structure des phtalates (et leurs abréviations).

I-9. Conclusion sur les micropolluants véhiculés par les eaux de ruissellement de voirie

Cette première partie de l'état de l'art a permis de mettre en évidence les nombreuses sources de micropolluants **organiques** et **métalliques** dans les eaux de ruissellement en milieu routier, ainsi que leur contexte réglementaire. Les MPO et ETM ont été présentés ainsi que leur occurrence dans les eaux de ruissellement. Les différentes études présentées ont recherché et trouvé les différents micropolluants présentés à différentes concentrations. Les ETM sont généralement les micropolluants les plus concentrés dans eaux de ruissellement de voiries, les concentrations suivaient la tendance Zn (entre 34 et 1653 µg/L) > Cu > Pb > Cr et Ni > Cd (entre < LQ et 1,3 µg/L). Celles des HAP, étaient les plus importantes pour le phénanthrène, fluoranthène, pyrène, chrysène, benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène et benzo(g,h,i)pérylène (entre 0,023 et 10,5 µg/L). Enfin, les concentrations en AP et BPA suivaient la tendance 4-NP (entre 0,099 et 5,82 µg/L) > BPA > 4-OP > APnEO (le NP1EO étant le plus concentré, entre 0,040 et 2,28 µg/L).

Ces concentrations étaient le plus souvent **supérieures aux NQE** définies (notamment le 4-NP, 4-OP, BPA, DEHP, Zn, Pb, Cu, phénanthrène, fluoranthène, pyrène, chrysène, benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène et benzo(g,h,i)pérylène). Les différents polluants présents dans les eaux pluviales ne sont pas tous inscrits dans la DCE comme le BPA., et leurs concentrations dépendent des activités réalisées aux alentours (routes et types de routes, immeubles et types d'immeubles, industries et types d'industries etc.). Au-delà des valeurs présentées, on retiendra que la caractéristique majeure de la pollution des eaux de ruissellement est sa **variabilité** d'un site à un autre, d'une pluie à une autre sur un même site et au cours d'une même pluie (*Molle et al., 2013*).

Dans les eaux de ruissellement, les micropolluants se répartissent entre la fraction **particulaire** et la fraction **dissoute** selon leurs propriétés intrinsèques. Lorsque les études différencient les deux fractions, il est possible de constater que certains polluants se retrouvent essentiellement sous forme particulaire (Pb et HAP de haut poids moléculaire par exemple), d'autre sont répartis entre les deux fractions (Cu, APnEO et fluoranthène par exemple), ou encore d'autres sont surtout présent sous forme dissoute (Zn, Ni, HAP de faible poids moléculaire et BPA par exemple) (*Zgheib, 2009 ; Bressy, 2010 ; Gasperi et al., 2014 ; LeFevre et al., 2014 ; Flanagan et al., 2018 ; Becouze-Lareure et al., 2019*). En 2008, *Chocat* considérait que la majorité des polluants étaient sous forme particulaire, et ne parlait pas de la fraction dissoute. La prise en considération de la pollution dissoute est arrivée après, puisqu'en 2010, des critiques sur les lacunes de connaissance à propos de la pollution dissoute ainsi que des études de spéciation sont faites par *Bressy*, et en 2014, *LeFevre et al.* soulignent l'importance de ce type de pollution puisqu'ils sont généralement plus biodisponibles et qu'ils ne sont toujours pas assez étudiée. En 2019, *Becouze-Lareure et al.* critiquent encore le manque de connaissance de ce type de pollution. C'est donc un sujet d'étude important à approfondir encore aujourd'hui.

La répartition des micropolluants dans les eaux de ruissellement est finalement très importante pour la **mise en place de procédé de traitement** puisque selon la forme dissoute ou particulaire, le type de traitement ne sera pas le même. Le prochain chapitre présentera ainsi les **solutions** mises en place pour gérer et traiter les eaux de ruissellement en contexte urbain, et plus particulièrement les **filtres plantés de roseaux**, avec les mécanismes de rétention des polluants qui leur sont associés.

II - Filtres plantés de roseaux pour le traitement de la contamination du ruissellement urbain

II-1. La gestion à la source des eaux pluviales

A partir des années 1980, avec des problématiques de surcharge des réseaux d'assainissement lors d'évènements pluvieux lié à l'imperméabilisation des surfaces, une réflexion s'est développée visant à réintégrer l'eau dans la ville et redonner le statut de ressource aux eaux pluviales urbaines (Chocat, 2008). La capacité des réseaux d'assainissement devenant insuffisante, l'objectif était de compenser cela par la mise en place de **techniques** dites « **alternatives** » traitant le ruissellement en amont au plus près des **sources de ruissellement**, en opposition à la technique traditionnelle du « tout à l'égout ». Leur rôle est de limiter les volumes d'eau et la pollution arrivant en aval et palier au déficit d'alimentation des nappes (Maigne, 2006). Pour cela, les **Ouvrages de Gestion des Eaux Pluviales** (OGEP) mis en place sont le plus souvent des **aménagements stockant** dont le rôle est d'accueillir les eaux de ruissellement réduisant ainsi les volumes ruisselés. Les eaux sont alors stockées jusqu'à être progressivement évacuées vers un milieu récepteur (fleuve, rivière, lac, nappe) ou éventuellement un réseau d'assainissement pluvial (Tassin et Chebbo, 2000). Lorsque l'ouvrage est prévu pour, un **traitement** des eaux est également réalisé par l'OGEP au cours de l'infiltration de l'eau, permettant alors une épuration des eaux de ruissellement contaminées. En effet, **différents processus biologiques, chimiques et physiques** ont lieu lors de l'infiltration permettant la rétention des polluants par le sol ou massif filtrant (Tedoldi et al., 2016). Ces processus seront détaillés dans le II-4.1.

Ce changement progressif de paradigme dans la gestion des eaux de ruissellement, représenté par la Figure 1.6 (passage de la Figure 1.6A à 1.6B) a initialement été entrepris afin de répondre à la problématique hydraulique des **volumes** d'eau trop importants arrivant en aval. Mais avec le temps, la problématique de la **qualité** de l'eau a également été incluse (limitation de la pollution) (Chocat et al., 2022). En effet, le Chapitre 1 a permis de montrer l'étendue et la variabilité de la pollution des eaux de ruissellement en ville, nécessitant alors un traitement avant rejet mais également son étude et suivi. De plus, le plus souvent, les eaux de ruissellement récupérées à la source sont moins chargées en polluants que les eaux pluviales à l'aval des réseaux d'assainissement séparatifs (Bressy, 2010). Une gestion des eaux en amont permet donc d'évacuer localement des eaux moins contaminées en évitant leur mélange avec des eaux plus contaminées ainsi que leur contamination au cours du transport dans les réseaux (car il existe peu de réseaux dont la séparativité est totale) (Gromaire et al., 2013).

Les enjeux de la gestion à la source sont aujourd'hui (Gromaire et al., 2013 ; SYMASOL, 2016 ; Chocat et al., 2022) :

- de **maîtriser les risques d'inondation** (gestion des flux d'eau en amont par un stockage temporaire de l'eau et par infiltration),
- de **maîtriser les risques de pollution** (infiltration à la source) afin d'améliorer la qualité des milieux récepteurs ;
- d'**aménager et améliorer le cadre de vie en ville** en réintroduisant la nature en ville (ouvrages végétalisés, plurifonctionnels) ;
- d'**optimiser les coûts** de gestion en favorisant des ouvrages moins coûteux car passifs en énergie et nécessitant moins d'entretien et de matériaux.

Aujourd'hui, les OGEP sont de plus en plus utilisés en ville afin de lier l'assainissement urbain à des ouvrages perméables et végétalisés basés sur des écosystèmes naturels réels (Masi et al., 2018) (Figure 1.6B). Intégrer ces ouvrages dans le paysage urbain et introduire des zones humides, des espaces verts ou encore de la végétation rendra alors de nombreux **services écosystémiques** (bénéfiques que les humains tirent directement ou indirectement des fonctions des écosystèmes) : îlots de fraîcheur urbain, perméabilisation des sols, amélioration de la biodiversité en ville, service récréatif et esthétique (Mak et al., 2017 ; Uribe-Aguado et al., 2022), le tout en gérant les volumes et la qualité des eaux de ruissellement.

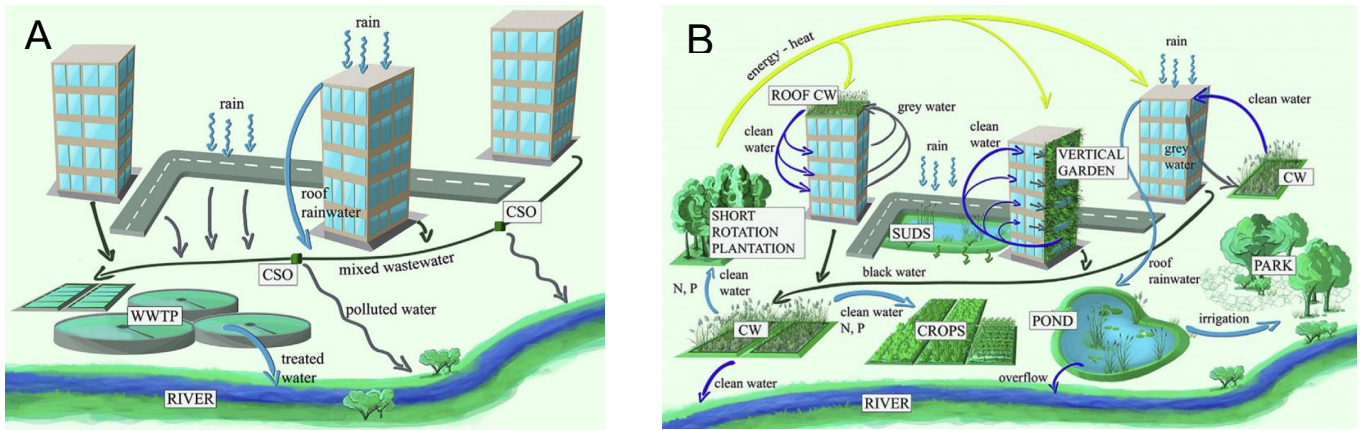


Figure 1.6 : Possible évolution du paradigme de la gestion des eaux en ville. A : Réseau initialement centralisé et imperméabilisé. B : Nouveau paradigme décentralisé avec notamment les SUDS (sustainable urban drainage system), les ouvrages de gestion des eaux pluviales. WWTP = wastewater treatment plant ; CSO = combined sewer overflow ; CW = constructed wetlands. Figure issue de (Masi et al., 2018).

De nombreuses terminologies existent pour évoquer les OGEP, elles sont synthétisées sur le Tableau 1.9. Les SUDS, LID, GI ou encore BPM sont parmi les termes les plus employés dans le monde (Fletcher et al., 2015). Dans la suite de ce manuscrit, le terme **ouvrage de gestion des eaux pluviales** (OGEP) sera utilisé pour parler de ce type de solution. De plus, les **filtres plantés de roseaux** (FPR) sera le terme utilisé pour décrire la solution mise en place dans le cadre de cette thèse, dont le principe sera présenté en détail, dans le II-3.

Ainsi, de nombreux OGEP ont été développés avec le temps et ils peuvent être classés de différentes manières : selon les **fonctions** portées par l'ouvrage (stockage et/ou infiltration et/ou traitement) ou selon la **proximité** de la source de ruissellement (à la source, semi-centralisé ou centralisé).

Tableau 1.9 : Les différentes terminologies employées dans le cadre de la gestion des eaux de ruissellement dans le monde (d'après Fletcher et al., 2015).

| Nom | Abréviation | Origine |
|--|-------------|----------------------------------|
| Sustainable Urban Drainage System | SUDS | Royaume-Uni/Australie |
| Best Management Practice | BMP | Etats-Unis |
| Stormwater Control Measure | SCM | Etats-Unis (remplacement de BMP) |
| Green Infrastructure | GI | Etats-Unis |
| Integrated Urban Water Management | IUWM | - |
| Low Impact Development | LID | Etats-Unis |
| Source Control | SC | France/Etats-Unis |
| Technique Alternative | TA | France |
| Ouvrages de gestion des eaux pluviales à la source | OGEP | France |
| Water Sensitive Urban Design | WSUD | Australie |

II-2. Les différents ouvrages de gestion des eaux pluviales

Les différents OGEP existants pour le traitement des eaux de voirie surtout sont synthétisés dans l'Annexe 1-5, selon une synthèse des différentes publications suivantes : Chocat, 2008 ; West of England, 2015 ; SYMASOL, 2016 ; Mohanty et al., 2018 ; Chocat et al., 2022. Une forte diversité de conception des OGEP est révélée, il y a d'une part ceux permettant le stockage puis l'infiltration ou le transport vers un exutoire comme les structures réservoir, revêtements perméables, massifs enterrés, puits d'infiltration ou encore les bassins de rétention. D'autre part, il y a les OGEP filtrants permettant

également le **traitement** des eaux comme les FPR, jardins de pluie, bassins d'infiltration, noues ou encore systèmes de biofiltration.

Ces derniers types d'ouvrages sont plus intéressants puisqu'ils permettent de naturellement épurer les eaux de ruissellement sans recours à de l'énergie et est donc considéré comme une technique **extensive**, c'est-à-dire une technique de traitement pouvant fonctionner sans énergie ou réactifs, avec cependant des charges appliquées par unité de surface plus faibles que le système intensif. Pour le traitement des eaux de ruissellement, ces techniques sont un compromis intéressant entre coût et bénéfice (*Molle et al., 2013*). Les FPR font partie de la deuxième catégorie d'OGEP, nous nous focaliserons sur ce type d'ouvrage dans la suite de ce chapitre du manuscrit.

II-3. Les filtres plantés de roseaux pour le traitement des eaux de ruissellement

II-3.1. Classification des zones humides

Les **zones humides naturelles** sont des zones terrestres saturée en eau de façon saisonnière ou permanente en raison de leur localisation et contexte géomorphologique, excluant alors les espèces végétales ne pouvant pousser dans des sols saturés, et modifiant également les propriétés du sol (changement chimiques, physiques et biologiques se produisant pendant les inondations) (*Kadlec et Wallace, 2009*). Ces zones fournissent un certain nombre de services tels que le stockage et transport des eaux des inondations, l'amélioration de la qualité de l'eau, barrière contre l'érosion côtière ou encore recharge des eaux souterraines (*Mungasavalli et Viraraghavan, 2006*)

Les **Zones Humides Artificielles** (ZHA, **Constructed Wetlands** en anglais) sont une famille d'ouvrages d'ingénierie écologique (correspondant à la mise en œuvre de processus naturels complexes dans des procédés industriels) conçus pour traiter les eaux (de différentes origines) en reproduisant de façon « contrôlée » les processus biologiques, chimiques et physiques de dépollution qui interviennent dans les zones humides naturelles au travers de la végétation, des sols et des communautés microbiennes associées (*Vymazal et al., 2006 ; Mungasavalli et Viraraghavan, 2006*). Ainsi, il s'agit d'un système complexe où il est important d'améliorer les connaissances concernant les processus biologiques et biogéochimiques se produisant pour comprendre les performances car ces processus influencent fortement le fonctionnement des zones humides. Ces ouvrages peuvent être assimilés à des bassins artificiels composés d'un substrat/média, de plantes et de faune autochtone (macro-méso-micro faune et microorganismes) qui combinent les fonctions d'infiltration, de stockage et de rétention/dégradation des contaminants contenus dans les eaux de ruissellement (*Kadlec et Wallace, 2009*).

Cette famille regroupe plusieurs ouvrages qui sont classés selon deux critères importants : la **végétation** (type de macrophytes) et l'**hydrologie** (sens de l'écoulement) (*Vymazal, 2007*) (Figure 1.7). Tout d'abord, le premier niveau de classification est la végétation, avec des ZHA constituées de plantes flottantes, émergées ou immergées (Figure 1.7). La majorité des ZHA dans le monde sont celles plantées de macrophytes émergents (*Vymazal et al., 2006*) sous forme de filtres plantés, c'est également le cas pour le site d'étude de cette thèse. Pour ces derniers, c'est le critère hydrologique (type et sens d'écoulement) qui va ensuite les différencier : les ZHA à écoulement superficiel (lits plantés à écoulement horizontal superficiel/lagunes à écoulement superficiel), les ZHA à écoulement horizontal (filtre planté à écoulement horizontal souterrain) et les ZHA à écoulement vertical (filtres plantés à écoulement vertical) (*Molle et al., 2013 ; Vymazal, 2007*) (Figure 1.7). Des systèmes hybrides peuvent également être mis en place. La suite de ce manuscrit présentera uniquement **les FPR, avec une attention particulière sur ceux à écoulement vertical**.

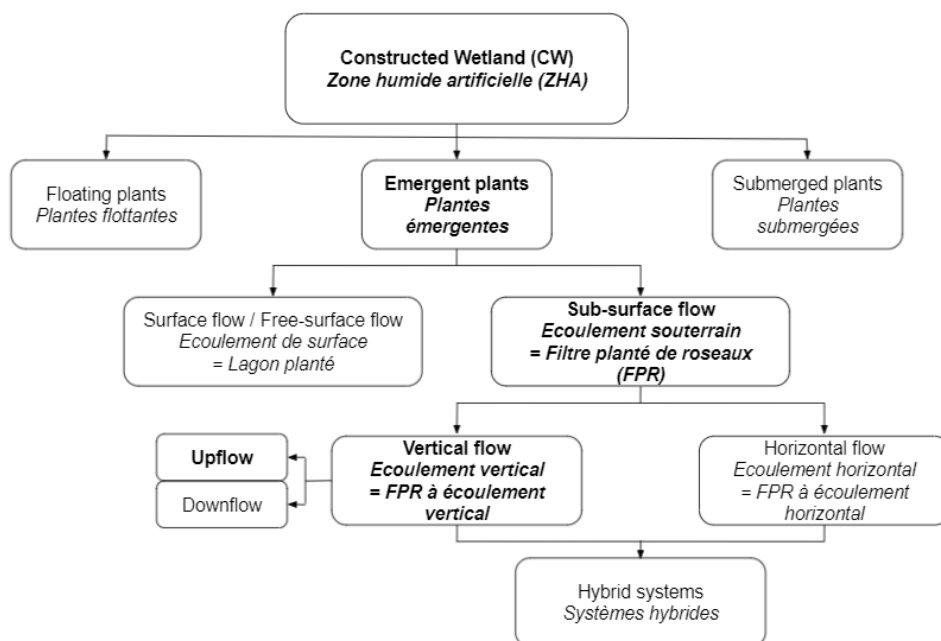


Figure 1.7 : Classification des zones humides artificielles, avec les termes en anglais et en français (d'après Vymazal, 2007).

II-3.2. Contexte et historique de la mise en place des zones humides artificielles

Les zones humides naturelles ont été initialement utilisées comme site d'évacuation des eaux usées pendant longtemps. Les ZHA pour le traitement de l'eau ont une histoire plus courte. Développées initialement pour le traitement des eaux usées dans les années **1960** en Allemagne à l'université de Kassel par le chercheur Käthe Seidel (Vymazal *et al.*, 2006), le système sous forme des filtres plantés s'est par la suite répandu en Europe, notamment en France dans les années 1980. Les premiers systèmes français pour traiter les eaux usées ont été construits à Saint-Bohaire par le Cemagref en 1978 (Liénard *et al.*, 1993) pour le traitement des eaux usées, puis ce type d'ouvrage s'est répandu pendant les années **1990** dans le pays.

Un recensement des publications réalisées sur Web of Science (WoS) en été 2023 avec dans le titre au moins un des termes suivants: "constructed wetland*" OR "reed bed filter*" OR "macrophyte bed*" OR "reed bed*" OR "treatment wetland*" OR "artificial wetland*" (Figure 1.8A) a révélé 6 941 publications. On constate bien l'intérêt croissant de cette technique à partir des années 1990 dans le monde (le nombre de publications est exponentiel).

Ces ouvrages ont principalement été utilisés pour le traitement des eaux usées, mais ils ont également été installés par la suite pour le traitement des eaux agricoles, eaux de lixiviats de décharges, effluents industriels (Effluents industriel : Billore *et al.*, 2001 ; Lee *et al.*, 2004 ; Calheiros *et al.*, 2007; Eaux agricoles : Headley *et al.*, 2001 ; Eaux de lixiviat de décharges : Bulc *et al.*, 1997 ; Martin *et Johnson*, 1995) mais également des **eaux pluviales** (Molle *et al.*, 2013 ; Giroud *et al.*, 2007 ; Esser *et al.*, 2004 par exemple en France ; Revitt *et Morrison*, 1987 ; Bulc *et Sajin Slak*, 2003). L'utilisation de tels ouvrages pour le traitement des eaux pluviales date de la fin des années 80 aux Etats-Unis (Revitt *et Morrison*, 1987) mais sa démocratisation date plutôt du début des années **2000**.

Afin de cibler les publications en contexte de traitement d'eaux de ruissellement, les termes suivants ont été rajouté à la recherche : AND ("stormwater") OR ("rainwater") OR ("runoff")) (Figure 1.8B). Cette fois-ci, 227 résultats ont été obtenus. C'est bien à partir des années 2000 qu'un intérêt scientifique réel s'observe mais à plus faible échelle par rapport à d'autres types d'eaux (1 642 résultats pour les ZHA appliquées aux eaux usées par exemple).

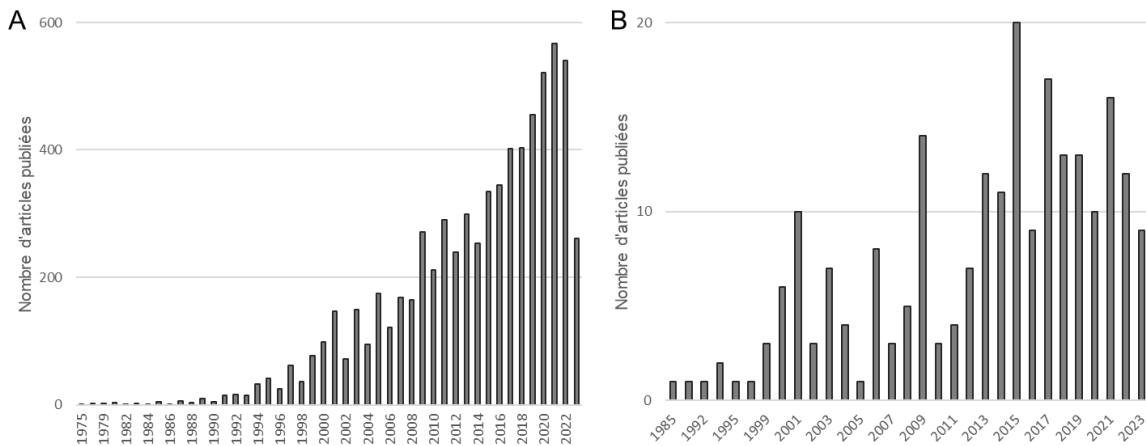


Figure 1.8 : Nombre d'articles publiés dans le monde entre 1975 et 2023 traitants de zones humides artificielles (A) et de zones humides artificielles pour le traitement des eaux de ruissellement (B) (données issues de Web of Science).

Les ZHA ont ainsi vu leur développement s'accélérer depuis 1985 dans le monde, car bien que mécaniquement simples, ce sont des systèmes **biologiquement complexes** capable d'obtenir des **efficacités épuratoires élevées**.

II-3.3. Les filtres plantés de roseaux

Un FPR est donc **une zone humide artificielle à écoulement souterrain vertical ou horizontal**, qui est une technique de traitement extensif des eaux. Il s'agit d'une excavation, étanchéifiée puis remplie de couches superposées de matériaux filtrants dont la granulométrie augmente avec la profondeur (sable, gravier fin, gravier) sur lesquels des macrophytes sont plantés en surface (dans le sable en général) et des communautés microbiennes autochtones se développent (*Kadlec et Wallace, 2009 ; Molle et al., 2013*). En Europe, ces filtres sont le plus souvent plantés de roseaux communs, les ***Phragmites australis*** (ou encore de *Typha latifolia*) (*Lucas et al., 2015, Mungasavalli et al., 2006*). Les FPR sont donc des bioréacteurs artificiels, en système fermé par rapport à l'environnement autour, dans lesquels l'eau va s'écouler pour être traitée, puis être drainée pour être évacuée.

Les différents FPR sont distingués par le mode d'écoulement de l'eau dans le substrat ; le fonctionnement de ces filtres est similaire, mais se fait dans des conditions très différentes. Les FPR appliqués au traitement des eaux pluviales peuvent être à écoulement horizontal ou **vertical**, mais ce dernier est le plus souvent employé car plus efficace et moins gourmand en espace (stockage et traitement de l'eau au sein d'une même FPR contrairement au horizontal), lui permettant d'être déployé au plus près des installations d'eaux pluviales (déversoirs d'orages par exemple).

Ce type d'ouvrage va ainsi assurer deux principaux rôles (*Molle et al., 2013 ; Molle, 2003 ; Kadlec et Wallace, 2009*) :

-Rôle hydraulique : recueillir les eaux pour atténuer les pics de débit grâce à une perméabilité suffisante pour avoir un taux d'infiltration voulu ;

-Rôle de traitement des eaux : des processus physiques, chimiques et biologiques (cf. II-4.1) vont permettre l'abattement de la contamination des eaux au cours de leur passage dans le FPR.

Ainsi, en se référant à la définition donnée par *Tassin et Chebbo (2000)*, les FPR sont donc inclus dans les techniques alternatives de gestion des eaux pluviales (rôle hydrologique et de dépollution).

De nombreux **termes** peuvent être employés pour définir les FPR dans la littérature (Tableau 1.10) en anglais et en français. Les termes les plus utilisés en français sont : les « filtres plantés de roseaux » ou les « zones humides artificielles » (ou encore les « zones humides construites »), avec ce premier terme qui est le plus souvent utilisé. En anglais, les termes les plus utilisés sont « reed bed filter » et « constructed wetland », ce dernier étant majoritairement utilisé (*Carvalho et al., 2017*).

Tableau 1.10 : Les différents termes employés pour parler de filtres plantés de roseaux.

| Terme français | Terme anglais |
|--|---|
| Filtres plantés de roseaux | Reed bed filter |
| Filtres plantés de macrophytes | Reed bed |
| Filtres plantés | Planted reed bed |
| Lits à macrophytes | Macrophyte bed |
| Zones humides artificielles | Constructed wetland |
| Zones humides construites | Treatment wetland |
| Zones humides aménagées | Artificial wetland |
| Marais artificiels / construits / aménagés | |
| Filtre planté de roseaux à écoulement vertical / horizontal | Vertical/horizontal flow constructed wetland |
| Filtre planté de roseaux à écoulement vertical / horizontal souterrain | Vertical/horizontal sub-surface flow constructed wetlands |

II-3.4. Les filtres plantés de roseaux à écoulement vertical

Les FPR à écoulement vertical (FPR-V en français, ou VF-CW en anglais) sont les principaux filtres utilisés en France (Molle et al., 2004), mais également dans les pays européens (Kadlec et Wallace, 2009).

Dans ce type d'OGEP, l'eau est amenée par le **haut** du filtre (contrairement aux FPR-H où ils reçoivent l'eau directement dans leur massif), et va se répartir de façon homogène à la surface du FPR, pour finalement s'y infiltrer verticalement par gravité (Vymazal et al., 2006 ; Esser et al., 2004). L'alimentation est réalisée par bâchées, c'est-à-dire par **intermittence** ; l'eau est amenée rapidement (via des pompes ou siphons auto-amorçant par exemple) de façon à submerger le FPR pour avoir une infiltration homogène en son sein (Molle et al., 2004). La couche de surface (sable) permet une bonne répartition de l'eau, et la couche du fond permet un bon drainage. Le temps de séjour des eaux dans des FPR-V est de l'ordre de quelques heures en général. La Figure 1.9 présente un schéma d'un FPR-V classique.

L'écoulement de l'eau dans le FPR est majoritairement gravitaire, en contexte d'eaux pluviales il va donc dépendre de plusieurs facteurs (Molle et al., 2013) :

- Caractéristiques propres du filtre** : perméabilité du massif filtrant, débit, régulation du drainage, présence ou non d'une réserve d'eau au fond du filtre
- Historique de fonctionnement du filtre** : état de saturation, développement de la végétation et de la rhizosphère (donc âge du filtre), état de colmatage du filtre
- Hydraulique du filtre** : caractéristiques de la pluie, intensité et débit des apports en eau en amont du FPR.

L'effluent traité est ensuite collecté grâce à une couche drainante au fond du FPR composée de galets ou graviers grossiers disposés autour d'un réseau de tuyaux de drainage (drainage libre). Ce dernier est également connecté à l'atmosphère par des cheminées d'aération ce qui induit une aération passive (Vymazal, 2011). En plus des cheminées, lorsque le FPR se vide, l'air rempli à nouveau le filtre, permettant une **bonne aération**. Ainsi, cette alimentation par intermittence assure des bons transferts d'oxygène dans l'ensemble de l'ouvrage car ils ne sont presque jamais saturés (pas d'anaérobie). Tout cela fait que l'aération du FPR est bien meilleure que dans les FPR-Horizontaux où l'alimentation par le côté en continue favorise des conditions anaérobies (Vymazal, 2011 ; Kadlec et Wallace, 2009).

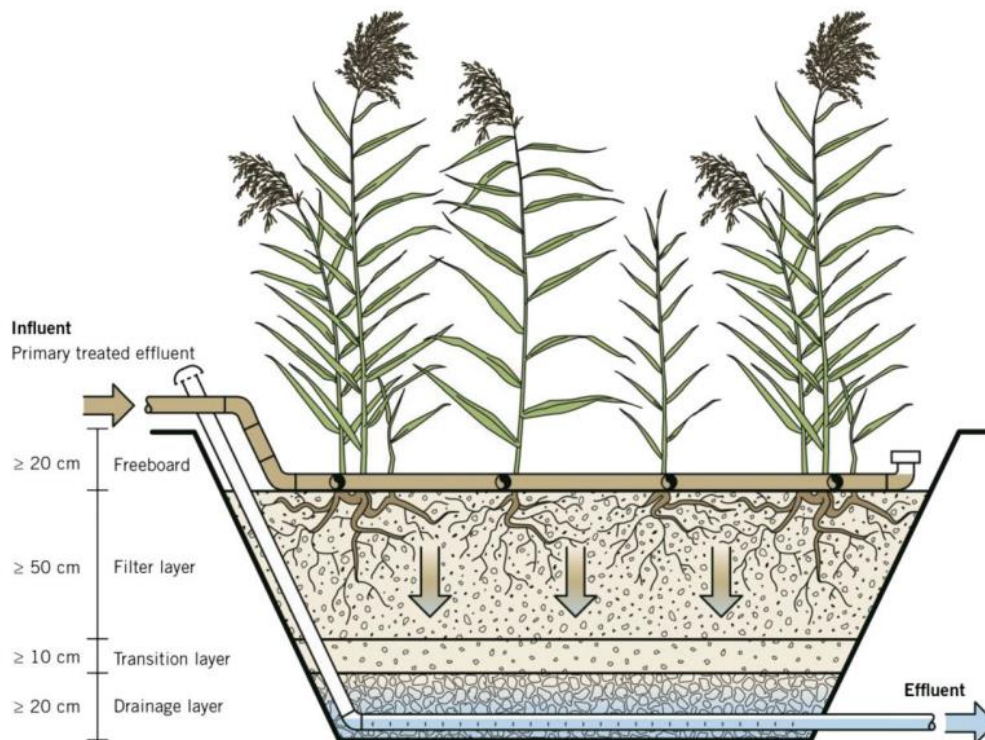


Figure 1.9 : Coupe schématique d'un filtre planté de roseaux à écoulement vertical (issue de Dotro et al., 2017).

Lors d'un événement pluvieux, 4 phases hydrauliques vont donc avoir lieu au sein du FPR (Molle et al., 2013) :

- **Phase de saturation progressive** par le fond du filtre : la vitesse de saturation est fonction de l'état initial du FPR et de la dynamique de l'épisode pluvieux. Des passages préférentiels peuvent se former au cours du temps (végétation, sécheresse) pouvant modifier la vitesse d'infiltration, donc de saturation.
- **Phase de saturation totale** du filtre et de flaquage à sa surface : cette phase permet de stocker l'eau (en surface et profondeur), d'assurer un temps de contact suffisant avec le massif pour traiter l'eau, et sa durée va impacter les teneurs en oxygène dissous dans le milieu.
- **Phase de désaturation** du filtre (ressuyage) et de réoxygénation : l'eau est évacuée par le fond du FPR pour laisser place à de l'air. Le débit de drainage puis les forces capillaires vont contrôler cette phase.
- **Phase sèche** : il n'y a pas d'écoulement gravitaire (sauf si une autre source d'eau est apportée pour alimenter le FPR par temps sec – par exemple des eaux claires) en revanche, des flux ascendants de la réserve hydrique jusqu'à la surface ont lieu par capillarité lié à l'évapotranspiration des roseaux. Ainsi, cette réserve est fondamentale pour la survie des roseaux par temps sec.

Cette **alternance** d'alimentation et de repos (humide/sec) permet des **périodes de repos** qui sont bénéfiques pour le FPR-V (Kadlec et Wallace, 2009; Molle et al., 2004) :

-Le ressuyage du FPR permet de restaurer la quantité **d'oxygène** donc de favoriser les conditions **oxiques**

-Contrôler le **développement** de la biomasse végétale et microbienne (activité microbienne plus importante en condition oxiques)

-L'aération permet de favoriser la **dégradation et minéralisation** des matières organiques dissoutes et particulaires. La dégradation biologique aérobie est donc importante dans ces FPR grâce au fonctionnement hydraulique.

Cependant, ce type d'alimentation ne favorise pas les conditions anoxiques ; ainsi, il ne permet pas de réaliser la dénitrification contrairement à la nitrification par exemple, donc la transformation complète de

l'azote n'est pas possible avec uniquement ce type de FPR (Vymazal et al., 2006). Contrairement aux FPR-H plus soumis aux problématiques de colmatage du massif filtrant, presque aucun traitement n'est généralement réalisé en amont du FPR-V. Toutefois, quelques installations peuvent être mises en place en amont de celui-ci : dégrillage des gros débris ou encore bassin de rétention/décantation des eaux (Kadlec et Wallace, 2009). Enfin, en général, plusieurs FPR-V sont mis en place pour avoir constamment au moins un filtre alimenté en eaux.

Les FPR-V ont initialement été conçus pour traiter les eaux usées. Le système est généralement constitué de deux filtres en série (et plusieurs systèmes similaires en parallèle pour fonctionner par alternance), le premier filtre étant composé de différents graviers et le second de sable puis gravier, afin de réaliser un traitement grossier puis fins (Molle et al., 2004). Ce système permet d'épurer des eaux brutes non décantées car l'apport vertical permet de concentrer les Matières en Suspension (MES) à la surface du FPR (donc ne colmatent pas l'intérieur du filtre contrairement aux FPR-H). Enfin, ces systèmes peuvent être combinés avec des FPR-H pour créer des chaînes de nitrification-dénitrification (Kadlec et Wallace, 2009). Dans un contexte de traitement des eaux pluviales, l'alimentation va dépendre des événements pluvieux, moins récurrents que les eaux usées. Il y a donc une contrainte qui est la **fréquence des pluies**, la fréquence n'étant pas fixe, et si aucun autre apport d'eau supplémentaire n'est fait, le risque de sécheresse peut être élevé et entraînera des conséquences sur les macrophytes. Le système est généralement composé d'un **unique filtre** recevant des eaux pluviales strictes ou des eaux de déversoir d'orage (eaux de débordement d'égouts lors de forts événements pluvieux, composées d'eau usées et d'eaux de ruissellement). Le FPR est en général placé entre le déversoir d'orage ou la source de ruissellement et le milieu récepteur. Un pré-traitement peut être mis en place en amont du FPR, par exemple une mare de sédimentation (Walaszek et al., 2018 par exemple) mais il n'est pas obligatoire. Cela permet de s'affranchir de la maintenance d'un autre ouvrage et de la présence d'eau stagnante, tout en conservant des bons rendements (Molle et al., 2010).

Le Tableau 1.11 permet de comparer fonctionnement des deux types de FPR (écoulement horizontal et vertical).

Tableau 1.11 : Principales différences de fonctionnement entre un FPR-Vertical et un FPR-Horizontal.

| Paramètre | FPR-V | FPR-H |
|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| Types d'eaux | Brutes | Obligatoirement prétraitées |
| Conditions | Aérobies / oxygène | Anaérobies/anoxiques |
| Alternance | Obligatoire | Non nécessaire |
| Alimentation | Par banchée : intermittence | En continue |
| Surface | Surface nécessaire plus faible | Surface nécessaire plus importante |
| Élimination de l'azote | Nitrification uniquement | Dénitrification uniquement |
| Risque de colmatage | Possible en surface | Au sein du massif filtrant |
| Maintenance | Plus simple | Plus lourde |

Pour finir, le Tableau 1.12 synthétise les avantages et inconvénients de l'utilisation des FPR pour le traitement des eaux pluviales. Les FPR présentent donc de nombreux avantages dans un paysage urbain, ils rendent des services écosystémiques de **régulation** (hydrologique, de la qualité de l'eau, du climat par la formation d'un microclimat lié au FPR) d'**approvisionnement** (les roseaux peuvent ensuite devenir des matières premières) de **support** (augmentation de la biodiversité des plantes, microorganismes, invertébrés et vertébrés) et **culturels** (récréatif, éducatif et esthétique). Il faut toutefois rester vigilant concernant les inconvénients pouvant exister en ville.

Tableau 1.12 : Synthèse des avantages et inconvénients de la mise en place de FPR en milieu urbain pour le traitement des eaux pluviales.

| Avantages | Inconvénients |
|---|---|
| Atténuation des pics de flux d'eaux et de polluants dans les milieux naturels | Possible remobilisation et relargage des polluants |
| Bonne tolérance pour les flux hydrodynamiques variables | Risque de colmatage si aucun d'entretien n'est réalisé |
| Valorisation possible de l'eau en sortie si l'efficacité épuratoire est suffisante | Forte emprise au sol, plus que pour des systèmes intensifs ce qui peut limiter leur installation en milieu urbain en raison du peu d'espace disponible |
| Limitation de la saturation des stations d'épurations | Fonctionnement plus lent que des techniques traditionnelles |
| Pas d'ajout de produits chimiques pour traiter | Si les précipitations sont supérieures au dimensionnement du filtre, une partie peut ne pas être traitée (surverse) donc le traitement est moins efficace |
| Consommation faible en énergie | Performances variables selon les saisons et la météorologie |
| Coûts réduits grâce à la faible maintenance et exploitation | Tolérance limitée à la sécheresse prolongée |
| Ouvrage simple en termes de technique et technologie (généralement) donc flexibles | Diminution possible des performances dans les régions climatiques froides |
| Bonne intégration paysagère permettant la création d'un nouvel espace urbain pouvant être public : square, jardin public, parc urbain, dont la partie traitement reste protégée | Problèmes de parasites et moustiques autour de l'ouvrage |
| Développement d'un écosystème et maintien de la biodiversité amenant faune et flore en ville grâce à la mise en place d'une zone humide | |
| Nuisances sonores, visuelles et olfactives faibles | |
| Supports de politiques environnementales (Chartre de l'environnement, DCE) et bon outil de sensibilisation aux politiques environnementales car très visuel | |

II-3.5. Les différents constituants solides d'un filtre planté de roseaux

Un FPR est constitué de trois composants solides : le massif filtrant, autrement dit le ou les **substrats**, le **sédiment** et la **végétation**.

● Les substrats et le sédiment :

Le **substrat** est un matériau généralement constitué de sable et de gravier. Il s'agit d'un milieu triphasique constitué d'une phase solide (constitué d'une phase organique et d'une phase minérale), d'une phase liquide (la solution contenue entre les pores) et d'une phase gazeuse (l'atmosphère contenue entre les pores) (Girard et al., 2011). Le compartiment vivant dans le substrat est important également (macrofaune, mésofaune et microfaune). La phase solide est déterminante pour la rétention des contaminants dans l'OGEP ; cependant, tous les composants solides ne participent pas à la rétention des contaminants, car ils ne présentent pas tous les caractéristiques requises pour interagir avec les espèces présentes en solution. C'est le cas notamment de la fraction granulométrique grossière (supérieure à 2 mm), qui est chimiquement considérée comme inerte. Les constituants **les plus fins** (argiles, limons) et ceux de **nature organique** sont davantage réactifs (Girard et al., 2011 ; Alloway, 2013). Les constituants réactifs des substrats sont donc (Tedoldi et al., 2020 ; Girard et al., 2011) :

- **Les matières organiques (MO)** : fraction issue de résidus de végétaux et organismes vivants qui sont progressivement décomposés et assimilés au sol à leur mort. Ces processus conduisent à la formation de molécules de plus en plus complexes (acides humiques et fulviques étant les substances les plus stables), qui présentent une diversité importante de groupements chimiques fonctionnels à leur surface, pouvant interagir avec les ETM et les polluants organiques. Cette fraction est plus abondante en surface d'un sol ou d'un substrat. Une particularité en contexte d'OGEP est l'accumulation de MES

organiques contenues dans les eaux qui s'accumulent également en surface de FPR, augmentant alors le taux de MO.

- **Les argiles minéralogiques** : grains fins en feuillets intervenant dans la rétention des ETM grâce à leur charge électrique de surface négative. Le bord des feuillets est également constitué de groupement -O et -OH pouvant réagir avec les ions. Enfin, la surface spécifique des argiles est très élevée

- **Les oxydes et hydroxydes de fer, aluminium ou manganèse** (minéraux contenant un atome métallique, tels que la gibbsite ou la goéthite) : oxydes contenant des groupements chimiques -OH et -OOH, réactifs vis-à-vis des cations.

- **Les carbonates** : de formule CaCO_3 , ce minéral participe au pouvoir tampon du sol ou substrat en contrôlant son pH. Le pH restera plus alcalin et permettra la rétention et/ou précipitation de certains éléments en solution (surtout les ETM).

Le **sédiment** est un composant solide du FPR initialement absent mais s'accumulant avec le temps à sa surface (si aucune décantation en amont n'est réalisée). En effet, la percolation des eaux dans le massif filtrant entraîne une accumulation des MES contenues dans les eaux à la surface du FPR, formant alors une couche de sédiments. Cette couche est de plus en plus considérée comme un acteur clé des performances des FPR en raison de ses capacités d'adsorption et de rétention élevée (Kim et al., 2013 ; Molle, 2014 ; Kim et al., 2015 ; Kania et al., 2019 ; Trein et al., 2020). Ce solide est caractérisé par une perméabilité plus faible que le massif filtrant (particules globalement fines) et permet donc une meilleure répartition de l'eau à la surface du FPR (Kania, 2018). Il est également caractérisé par une capacité de rétention en eau importante (Morvannou et al., 2013) permettant plus d'échanges entre les solutions et le solide et permet d'éviter l'assèchement du FPR. Sa microporosité permet également d'augmenter sa surface spécifique et donc les interactions entre les eaux et les matières organiques qui a une capacité d'adsorption importante comme vu avant. Enfin, il permet un échange de l'oxygène important limitant les conditions anaérobies et favorise l'activité biologique (Molle, 2014). Ainsi, Molle (2014) a précisé l'importance de l'étude de cette couche en raison de ses différents rôles dans un FPR.

Les substrats et le sédiment sont également la zone de développement des **communautés microbiennes autochtones**, qui jouent un rôle important dans la rétention et élimination des micropolluants. Leur rôle sera détaillé dans le III-2. Le sédiment n'est donc pas un substrat au sens géotechnique, mais il s'agit d'un substrat pour le développement des communautés microbiennes. Pour cela, dans la suite du manuscrit, le terme substrat **englobera** les différentes couches du massif filtrant et ce solide pour permettre une lecture plus aisée.

● La végétation

Enfin, la **végétation** est plantée en surface du massif filtrant. Comme dit précédemment, les FPR sont le plus souvent plantés de **Phragmites australis** (*P. australis*). Aussi appelée « roseau commun », cette espèce est une graminée vivace et robuste présente sur tous les continents sauf l'Antarctique, et un des angiosperme (plante à fleur) les plus rependus (Maroyi et Oyen, 2011 ; *Encyclopedia of Life*, 2021). Ces roseaux forment des peuplements denses constitués de tiges mortes et vivantes pouvant atteindre jusqu'à 6 mètres de haut à un âge avancé (5 à 8 ans) (Gucker et Corey, 2008). C'est une espèce beaucoup utilisée dans les procédés d'épuration de l'eau en raison de sa forte croissance, de son fort développement racinaire, sa capacité à se développer en zone saturée et sa capacité de tolérer des conditions d'alternance entre sécheresse et humidité (Maroyi et Oyen, 2011).

Les roseaux communs sont présents partout dans le monde, ce qui indique une large tolérance climatique (climats désertiques semi-arides à arides, continentaux et tempérés subhumides à humides et subtropicaux à tropicaux) (Gucker et Corey, 2008 ; *USDA Plants Database*, 2021). Ils occupent des zones allant du niveau de la mer jusqu'à quelques milliers de mètres d'altitude. Concernant le sol, ils peuvent pousser dans une grande variété de substrats, ils tolèrent des gammes de nutriments, pH et matières organiques assez élevées (sols acides, basiques, neutres - de 4.5 à 8.7, riches ou pauvres en nutriments). Etant des plantes macrophytes, les *P. australis* tolèrent des inondations fréquentes et prolongées, ainsi que des périodes d'assèchement et des niveaux d'eau fluctuants. Ces roseaux peuvent également tolérer des conditions anoxiques. Enfin, les roseaux communs tolèrent des niveaux

élevés de salinité (de l'ordre des dizaines de g/kg), même s'ils s'implantent mieux dans des sites à faible salinité.

Les *P. australis* sont constitués de deux parties, aérienne et souterraine. Concernant la **partie aérienne**, le roseau produit des tiges aériennes hautes, robustes, persistantes, dressées et creuses qui sont feuillues sur toute leur longueur (Gucker et Corey 2008). Sur les tiges sont disposés le feuillage, les fleurs et les graines. Des stolons sont également souvent présents en surface (Maroyi et Oyen, 2011) ; il s'agit d'une tige aérienne rampante (donc qui évolue à l'horizontal, à la surface du sol) qui peut s'enraciner pour produire de nouveaux pieds. Il s'agit donc d'un organe végétal de multiplication végétative (multiplication asexuée). Finalement, la partie aérienne peut atteindre les 6 mètres de hauteur lorsque la plante atteint des âges avancés (5 à 8 ans) (Gucker et Corey, 2008). Concernant la **partie souterraine**, les *P. australis* sont constitués de racines mais également de rhizomes. Un rhizome est une tige souterraine tubérisée (qui emmagasine des réserves pour la prochaine pousse), à croissance horizontale qui produit des racines et des tiges à chaque printemps. Les rhizomes sont épais, assez profonds (la profondeur dépend des conditions du site, mais peut atteindre jusqu'à 2 m) et longs (ils peuvent atteindre 20 m de long). La croissance est rapide (40 cm/an) et ils forment un réseau souterrain dense (Gucker et Corey, 2008). La partie souterraine survit aux aériennes lors des périodes hivernales. Finalement, la croissance extensive des rhizomes et des stolons permet la production de peuplements denses de *P. australis* et cela de façon horizontale et verticale (Maroyi et Oyen, 2011), une des voies de reproduction de cette espèce.

Le **cycle biologique annuel** des *P. australis* est composé de trois phases : croissance, translocation et dormance (Great Lakes Phragmites Collaborative, 2017 ; Chesapeake Bay Program, 2021). Le début de la **croissance** (milieu-fin du printemps) est caractérisé par des vieilles tiges et des pousses vertes qui sortent du sol. Fin juillet, ces pousses deviendront des tiges verdoyantes et hautes avec une inflorescence immature de panaches plumeux. Le développement continuera jusqu'à la fin de l'été. À l'automne, les plantes commencent à déplacer les produits de la photosynthèse dans leurs parties souterraines pour le stockage hivernal, il s'agit de la **translocation**. Cette phase commence lorsque l'inflorescence arrive à maturité et touche à sa fin lorsque la plupart des feuilles sont tombées, que les tiges et fleurs jaunissent et que ces dernières libèrent leurs graines. Au cours de l'hiver, les plantes entrent en **dormance**. La partie aérienne meurt après déplacement des nutriments vers le système racinaire, qui lui va survivre tout l'hiver. Les tiges et fleurs restantes prennent alors une couleur homogène brune. Ainsi, en l'été, les roseaux atteignent leur taille maximum, traduisant une absorption maximale de nutriment contrairement à l'hiver où la phase de dormance limite l'absorption de nutriments et polluants (Fournel, 2012). Enfin, deux **voies de reproduction** existent chez *P. australis* : il se reproduit sexuellement à partir de graines et végétativement à partir des stolons et rhizomes (Gucker et Corey, 2008). Localement, c'est la croissance et la régénération végétative qui domine (la croissance des rhizomes et stolons permet la régénération après l'hiver de la végétation déjà établie) ; la dispersion de graines permet surtout l'établissement de nouvelles populations par germination.

Enfin, au sein de FPR-V, le niveau d'eau peut être au-dessus de celui du sol. Les *P. australis* peuvent se développer dans ces conditions, mais il est important de ne pas dépasser 50 cm d'eau au-dessus du niveau du sol afin de ne pas limiter la croissance de nouvelles pousses de roseaux (si les pousses restent trop longtemps immergées, la croissance est inhibée) (Batty, 2003). L'utilisation de *P. australis* dans des FPR présente donc l'intérêt de ces plantes à supporter des phases de saturation et de ressuyage tout en continuant leur développement, contribuant alors à un bon fonctionnement de l'OGEP, dont les rôles seront détaillés dans le III-1.

II-3.6. Efficacité épuratoire des FPR pour le traitement des eaux de ruissellement urbain

Une des méthodes pour vérifier l'efficacité qu'ont les FPR à réduire la pollution des eaux de ruissellement est le calcul de leur rendement (ou efficacité) épuratoire. Plusieurs équations sont utilisées dans la littérature, de la plus simple à celle intégrant le plus de paramètres dans l'équation. La formule est le rapport en pourcentage entre le polluant qui est retenu dans le FPR (soustraction de la concentration en sortie par celle en entrée) et celui en entrée du FPR (concentration en entrée). Ce rendement peut se calculer avec seulement les **concentrations** ou en utilisant les **masses** de polluants,

obtenu en multipliant la concentration par le volume d'eau écoulé (*Flanagan et al., 2018 ; Walaszek et al., 2018*). Cette méthode est plus précise car elle limite les biais liés aux concentrations.

Le Tableau 1.13 synthétise les rendements épuratoires des différentes études sur des FPR-V. Les ETM sont les micropolluants les plus souvent étudiés et les seuls polluants mesurés dans les études les plus anciennes. Concernant les MPO, les HAP sont généralement les seuls étudiés ; l'efficacité d'épuration de MPO émergents (AP, PAE, BPA) n'a pas encore été mesurée dans des FPR-V traitant des eaux de ruissellement urbains (aucun article trouvé). Ces résultats révèlent que les FPR-V permettaient un bon abattement des concentrations en ETM, avec des efficacités épuratoires totales comprises entre 22 et 99 % (la majorité était supérieure à 50 %) (Tableau 1.13). Le Cu, Pb et Ni montraient des efficacités les plus souvent élevées (entre 61 et 99 %). Quand les fractions dissoutes et particulaires étaient séparées, mis à part le Cd, les efficacités étaient meilleures sous forme particulaire (79 à 99 % contre 62 à 99 % sous forme particulaire et dissoute respectivement).

Concernant les MPO, les HAP n'étaient pas toujours tous détectés dans les eaux et certains étaient sous forme particulaire, d'autres sous forme dissoute (tendance particulaire tout de même). Cependant, aucune étude n'a évalué l'efficacité en séparant ces deux phases. Les efficacités épuratoires ont varié entre 44 et 98 % selon l'étude et le composé, les rendements étaient généralement bons (Tableau 1.13). La seule étude ayant mesuré l'efficacité épuratoire de la somme des 16 HAP a montré une valeur élevée de 86 % (*Branchu et al., 2018*). Cependant, certains HAP dépassaient en sortie les normes de qualité environnementale de la DCE et les auteurs concluaient que la fraction dissoute n'était pas bien retenue, expliquant ces résultats (*Pálffy et al., 2017*). En effet, lorsque l'efficacité épuratoire des MES était calculée, elle était généralement élevée, entre 46 et 97 % (en enlevant la valeur négative issue de *Birch et al., 2004*, correspondant à une performance fortement dégradée), la majorité étant supérieure à 69 %. La bonne épuration des MES explique donc celle des polluants présents sous forme particulaire ; l'efficacité épuratoire était toujours plus élevée dans la forme particulaire d'un polluant que dissoute lorsque les deux phases étaient séparées et analysées (*Walaszek et al., 2018 ; Branchu et al., 2018*).

Les AP, BPA et PAE n'ayant pas été étudiés dans les FPR-V traitant les eaux de ruissellement, ils sont tout d'abord discutés avec des études dans d'autres types d'OGEP. *Flanagan et al. (2018)* ont calculé les efficacités épuratoires de ces MPO émergents dans une bande enherbée et une noue de biofiltration traitant les eaux de ruissellement d'une autoroute. Une réduction des concentrations s'est observée pour presque toutes les substances (sauf pour NP₁EC qui a augmenté), le 4-OP et le BPA ont été les plus fortement réduits en sortie des OGEP, puis le NP₁EO, puis le 4-NP, et enfin le NP₂EO. Les réductions de ces polluants sous forme particulaire étaient plus élevées que pour ces mêmes polluants sous forme dissoute. Ainsi, ces ouvrages étaient plus performants pour réduire les MPO sous forme particulaire. Cependant, le BPA a constitué une exception, car il a été relativement bien éliminé malgré son caractère principalement dissout. *Flanagan et al. (2018)* ont de plus montré un relargage non négligeable d'AP, BPA et PAE lors des premiers mois d'alimentation d'un nouvel OGEP. Ce relargage était lié à d'autres composants que le substrat filtrant en lui-même tels que la géomembrane, les drains ou encore les tissus filtrants associés (qui sont eux-mêmes constitués de MPO). Cet aspect est donc important à prendre en compte.

Des études ayant calculé les efficacités épuratoires de ces MPO émergents dans des FPR-V plantés ou non, recevant des eaux usées ont également été trouvées (*Papaevangelou et al., 2016 ; Gikas et al., 2021*, Tableau 1.13), elles sont plus nombreuses que celles dans le cadre d'eaux de ruissellement. Les efficacités épuratoires étaient bonnes pour les différents MPO : entre 89 et 97 % pour les PAE, et entre 57 et 99 % pour les AP et le BPA, ce dernier étant le moins bien retenu dans les FPR. Ils ont également montré une meilleure efficacité épuratoire lorsque le FPR était planté (notamment le 4-NP qui était plus concentré en sortie de l'ouvrage en condition non plantée) et une meilleure efficacité que les FPR-H également étudiés.

Une observation importante est que dans ce type de système, il est impossible d'obtenir une **concentration nulle** en sortie d'OGEP, donc une efficacité de 100%. D'une part car il n'est pas possible d'obtenir une valeur nulle par les appareils (< LQ au maximum) et d'autre part, les polluants peuvent être relargués par le FPR selon différents mécanismes, tels que le relargage par les plantes, la formation

de métabolites (pour les MPO) qui peuvent être lessivés/lixivés ou encore le relargage de polluants par les matériaux qui composent l'ouvrage (Molle et al., 2013 ; Flanagan et al., 2018).

Tableau 1.13 : Efficacités épuratoires moyennes calculées dans la littérature (8 publications), dans des FPR verticaux traitant les eaux de ruissellement et synthèse des efficacités épuratoires (min-max). Pour les MPO émergents, aucune étude n'a été trouvée dans ces conditions, ainsi, des FPR-V traitant d'autres types d'eau ont été ajoutés.

| Type de FPR | Type d'eau de ruissellement | Age du FPR | Efficacité moyenne ETM (%) | Efficacité moyenne MPO (%) | Efficacité moyenne MES (%) | Référence |
|------------------------------------|-----------------------------|-------------|--|---|----------------------------|----------------------------|
| Bassin de sédimentation puis FPR-V | Résidentiel urbain | 4 à 6 ans | <u>Dissout</u> : Cu (99), Pb (99), Zn (97) <u>Particulaire</u> : Cu (99), Pb (98), Zn (93) | Acen (94), BaP (44), F (56), Phen (98), A (97), Fluo (71), Pyr (74), BbF (76) | - | Walaszek et al., 2018 |
| Bassin de sédimentation puis FPR-V | Résidentiel urbain | 2 ans | - | - | > 90 | Schmitt et al., 2015 |
| FPR-V avec matériaux adsorbants | Débordements d'égouts | 1 à 4 ans | Ni (96,5), Cu (93), Zn (69), Pb (61) | BaP (80), Phen (80), Nap (92) | 96 | Pálffy et al., 2017 |
| Bassin de sédimentation puis FPR-V | Autoroute | Non précisé | Cu (94), Zn (98), Cd (99), Ni (98), Pb (99) | - | 69 | Bulc et Sajn Slak, 2003 |
| FPR-V | Résidentiel urbain | Non précisé | Cu (65), Pb (65), Zn (52) | - | -98 % à 46 % | Birch et al., 2004 |
| FPR-V | Résidentiel urbain dense | 2 à 4 ans | <u>Total</u> : Pb (77), Zn (79), Cu (65), Cd (22, très variable) <u>Particulaire</u> : Pb (95), Zn (87), Cu (79), Cd (49) <u>Dissout</u> : Pb (62), Zn (79), Cu (33), Cd (> à entrant) | HCT (67), Somme 16 HAP (86), Glyphosate (66) | 97 | Branchu et al., 2018 |
| - | - | - | <u>Total</u> : Cd (22-99) ; Cu (65-94) ; Ni (96,5-98) ; Pb (61-99) ; Zn (52-98) <u>Dissous</u> : Cu (33-99) ; Pb (62-99) ; Zn (79-97) <u>Particulaire</u> : Cd (49) ; Cu (79-99) ; Pb (95-98) ; Zn (87-93) | Acen (94) ; BaP (44-80) ; F (56) ; Phen (80-98) ; A (97) ; F (71) ; Pyr (74) ; Nap (92) ; BbF (76) Somme 16 HAP (86) HCT (67) | MES (-98-97) | Synthèse (min-max) |
| 3 FPR-V, 2 plantés | Eaux usées de ville | Non précisé | - | <u>Plantée</u> DEP (97,4), DiBP (89,4), DEHP (90,8) <u>Non planté</u> : DEP (91), DiBP (69), DEHP (71,9) | - | Gikas et al., 2021 |
| 3 FPR-V, 2 plantés | Eaux usées de ville | Non précisé | - | <u>Plantée</u> : BPA (56,9), 4-NP (76), NP1EO (91,9), NP2EO (99,1) <u>Non planté</u> : BPA (44,7), 4-NP (-2,4), NP1EO (46,7), NP2EO (75,6) | - | Papaevangelou et al., 2016 |

Il est ainsi possible de conclure que les polluants présents dans la fraction particulaire sont généralement bien éliminés (ETM, HAP, PAE et AP). Cependant, l'élimination des polluants dissous (notamment le BPA et les HAP à faible poids moléculaire) reste encore peu documentée et est généralement plus faible, alors qu'ils sont probablement plus mobiles que leur homologues particulaires (LeFevre et al., 2014) donc plus biodisponibles. Cela peut ainsi impacter plus rapidement la masse d'eau réceptrice et ses organismes vivants. Enfin, un besoin d'étude d'efficacité épuratoire des MPO émergents est nécessaire dans les FPR-V traitant les eaux de ruissellement afin de mieux comprendre et connaître cet ouvrage.

II-4. Devenir des micropolluants étudiés retenus dans des filtres plantés de roseaux

Pendant longtemps, l'efficacité épuratoire était suffisante pour quantifier la performance d'un OGEP, le devenir des polluants une fois retenus par l'ouvrage était moins considéré. Mais c'est une question importante à aborder aujourd'hui car l'accumulation des micropolluants organiques et métalliques dans les OGEP peut conduire à **trois** problématiques.

Dans un premier temps, la nature des polluants ainsi que leurs teneurs dans les substrats d'OGEP dont les FPR peuvent provoquer des risques toxicologiques et éco-toxicologiques si ces dernières sont trop élevées (Johnson et Hunt, 2016 ; Li et Davis, 2008 ; LeFevre et al., 2012). Cette problématique est d'autant plus importante si l'OGEP est accessible au public (accessibilité de la terre contaminée) (LeFevre et al., 2012 ; Woods Ballard et al., 2015), ce qui est le cas de l'ouvrage étudié au cours de cette thèse. Dans un second temps, la saturation progressive des sites de sorption des sols peut in fine conduire à un transport facilité des polluants vers la profondeur des OGEP (car moins retenus par l'ouvrage), induisant alors une augmentation des risques de contamination des eaux réceptrices (Tedoldi et al., 2020). Enfin, lié à la première problématique, les sols/ substrats des OGEP contaminés au cours du temps (par le passage de l'eau) peuvent être considérés comme des déchets. Ainsi, il est important de localiser la pollution et quantifier les teneurs dans les sols pour une bonne gestion des déchets (LeFevre et al., 2012 ; Tedoldi et al., 2020 ; Walaszek et al. 2018). Il est donc aujourd'hui nécessaire d'étudier le devenir des polluants interceptés par les FPR.

II-4.1. Les différents processus physiques, chimiques et biologiques

impactant la rétention et l'élimination des micropolluants dans un FPR

Les processus conduisant à la rétention voire à l'élimination des MPO et ETM dans un FPR (et dans un OGEP de façon générale) sont d'ordre physiques, chimiques et biologiques. Il existe des processus dit biotiques (liés à l'activité d'organismes vivants) et d'autres dit abiotiques (non liés au vivant). Ces processus vont avoir lieu dans les composants solides des FPR et expliquent alors l'efficacité épuratoire mesurée entre l'amont et l'aval de FPR. Certains processus sont communs entre les MPO et ETM, d'autres impactent uniquement l'un ou l'autre.

Les définitions données dans cette partie sont issues de plusieurs références : (Meagher, 2000 ; Mungasavalli et Viraraghavan, 2006 ; Girard et al., 2011 ; Malaviya et Singh, 2012 ; LeFevre et al., 2014 ; Tedoldi et al., 2016 ; Tedoldi et al., 2020).

II-4.1.1. Les processus physico-chimiques

Trois processus purement **physiques** ont lieu majoritairement dans les FPR ;

- **La sédimentation** (ou décantation) : il s'agit d'un processus mécanique touchant la pollution particulaire, telles que les MES contenues dans les eaux de ruissellement. La gravité et la diminution de la vitesse de l'eau induit une sédimentation progressive des MES à la surface du FPR lorsque leur vitesse de chute (loi de Stokes, où la taille et la masse volumique de la particule est prise en compte) est supérieure à la vitesse d'écoulement de l'eau. La majorité des polluants des eaux de ruissellement étant sous forme particulaire (cf. Opartie I -), ce processus

est donc majeur pour leur rétention. Ce processus permet la formation de la couche de sédiment décrite plus haut.

- **La filtration** : il s'agit d'un processus de rétention des particules également, mais au sein du massif filtrant, grâce à sa porosité. Les particules de diamètre supérieur à la porosité seront retenues tandis que l'eau continuera de s'infiltrer en profondeur. Avec le temps, le massif filtrant accumule des solides impactant alors sa porosité et perméabilité ce qui peut être un risque pour ses performances.
- **La photodégradation** : il s'agit d'un processus de dégradation de molécules (organiques) causé par l'absorption de photons émis par le soleil, que ce soient des rayonnements ultra-violet, infra-rouges ou visibles. Ce processus dépend surtout des propriétés de la molécule vis-à-vis de la lumière mais également de la localisation de la molécule dans le massif filtrant ; la photodégradation sera surtout présente dans les premiers centimètres du massif (pas de pénétration de la lumière dans les couches plus profondes d'un sol ou substrat).
- **La volatilisation** : il s'agit d'un processus d'évaporation d'un composé en phase liquide vers la phase gazeuse. C'est un processus mineur dans les FPR traitant les eaux de ruissellement en raison du caractère très peu volatile des micropolluants étudiés (cf. I-5, I-6, I-7). Cela concernera par exemple les pesticides.

Concernant les processus **chimiques**, un mécanisme domine dans les FPR, il s'agit de l'adsorption, mais d'autres mécanismes mineurs existent également.

- **L'adsorption** : il s'agit d'un processus chimique ayant lieu à l'interface d'un solide (sol, substrat ou sédiment) et d'un liquide sous l'effet d'attractions intermoléculaires, conduisant à la fixation de molécules présentes en phase liquide sur la surface d'un solide. Il n'y a donc pas de réarrangement moléculaire. Ce terme regroupe plusieurs mécanismes faisant intervenir des énergies de liaison différentes mais la distinction est complexe à étudier. Deux types de sorptions peuvent donc avoir lieu.
La première est la **physisorption**, causée par des interactions électrostatiques entre le composé et le solide en raison de charges à la surface du solide. En effet, de nombreux constituants du sol contiennent à leur surface des charges négatives qui attirent donc des charges positives (les cations) afin de maintenir la neutralité. Cette adsorption est appelée **adsorption non-spécifique** car les composés de même charge sont retenus de la même façon (pas de sélection du composé selon sa nature). L'énergie des liaisons électrostatiques créées est faible, ainsi, ce processus est facilement réversible si d'autres cations compétiteurs arrivent (notamment le Na⁺ issu du sel de déglacage qui peut remplacer les ETM adsorbés, conduisant alors à leur remobilisation dans l'ouvrage).
Le deuxième type de sorption est la **chimisorption**, causée par des interactions plus fortes, de type covalente ou de coordination (liaison chimique créée). Cette sorption a lieu entre un composé et un groupe réactif de surface, tels que ceux présentés juste avant : groupements hydroxyles (présents sur les feuillets d'argiles ou les oxy-hydroxydes) et radicaux libres sur les molécules organiques. Ce type de réaction est appelé **adsorption spécifique** car il dépend de la structure de la surface et du composé. Il conduit à une rétention bien plus stable des composés que la physisorption, considérées le plus souvent comme irréversibles (sauf si solubilisation du solide adsorbant ou si dégradation des matières organiques). Les composés adsorbés de cette manière sont généralement considérés comme non biodisponibles.
- **La précipitation** : il s'agit d'un processus de formation d'un composé solide à partir d'une ou plusieurs espèces chimiques initialement présentes sous forme dissoute. Cela implique donc la formation d'une structure cristalline lors de la saturation d'un élément dans la solution du sol ou substrat. Ce mécanisme est ainsi dépendant des concentrations de l'élément en phase liquide.
- **L'oxydo-réduction et les réactions acido-basiques** : certaines conditions oxydantes ou réductrices peuvent décomposer, altérer ou modifier la spéciation des micropolluants présents dans les FPR. Le caractère alcalin et basique peut également modifier la spéciation d'un

composé pour le stabiliser dans le massif ou bien le libérer. Par exemple, la spéciation des ETM dépend du pH car il agit sur la solubilité des précipités, la stabilité des complexes formés et sur les propriétés de rétention des ETM par la physisorption. Généralement, plus le pH est alcalin, moins le métal sera mobile. Un autre exemple est le changement de degré d'oxydation d'un métal ou la modification de la solubilité de solides pouvant retenir les ETM par les variations du potentiel d'oxydo-réduction dans un sol/substrat.

- **La complexation** : réaction chimique conduisant à la formation d'un complexe entre un cation métallique et d'un ligand (molécules ou ions). Les matières organiques dans le FPR peut jouer un rôle de ligand et ainsi piéger les micropolluants au sein d'un complexe. Cependant, si le complexe n'est pas retenu dans l'OGEP, il peut être libéré en aval.

Ces processus chimiques sont pour la plupart **réversibles**, c'est-à-dire que le piégeage des micropolluants par ces mécanismes n'est pas absolu, les variations de paramètres environnementaux, physico-chimiques ou biologiques peuvent entraîner leur remise en solution. De plus, excepté la photodégradation et la volatilisation, ces processus physico-chimiques sont **conservatifs**, c'est-à-dire qu'ils modifient seulement la spéciation ou la mobilité d'un composé, mais pas sa teneur.

II-4.1.2. Les processus biologiques

Les organismes vivants tels que les microorganismes et la végétation jouent également un rôle sur la rétention et l'élimination des micropolluants. Certains processus sont conservatifs, et d'autres sont destructifs (conduisant à une réelle diminution des teneurs). Les différents processus existants sont brièvement décrits ici. La partie III de cet état de l'art y sera ensuite dédié.

- **Biodégradation** : il s'agit d'un processus de dégradation de composés organiques par les organismes vivants, le plus souvent les microorganismes dans les sols/substrats (bactéries et champignons essentiellement). C'est donc un processus destructif réduisant les teneurs.
- **Changement de la mobilité des métaux** : les activités des microorganismes et plantes peuvent modifier l'état d'oxydation, la disponibilité des ETM et donc leur mobilité et toxicité par des réaction d'oxydoréduction, de complexation ou d'acidification. Il s'agit donc d'un processus conservatif.
- **Adsorption par les plantes** : les racines ont évolué pour adsorber facilement les nutriments ; ainsi, leur surface spécifique est très élevée et de nombreux récepteurs chimiques à haute affinité sont également présents. L'adsorption sur les racines est donc un processus conservatif.
- **Absorption par les plantes** : le métabolisme des plantes conduit au prélèvement d'oligo-éléments et donc de métaux. Les ETM peuvent rester adsorbé dans les parois cellulaires des racines, ou bien pénétrer à l'intérieur des cellules à travers la membrane plasmique. Les MPO peuvent également être absorbés, mais ils ont été moins étudiés. Si la végétation est faucardée, il s'agit alors d'un processus destructif.
- **Phyto-dégradation** : Une fois le composé organique absorbé dans les tissus de la plante, des enzymes végétales peuvent les transformer en les minéralisant totalement ou partiellement en un intermédiaire stable qui peut ensuite être stocké dans la plante ou libéré dans les exsudats racinaires. Cette dégradation peut être attribuée à la plante mais peut également impliquer des microorganismes endophytes. Il s'agit donc d'un processus destructif majoritairement, mais qui peut être conservatif si le composé est finalement libéré dans le sol/substrat.

II-4.1.3. Mécanismes de rétention et d'élimination des micropolluants

Les **ETM** sont soumis à des processus conservatifs uniquement, sauf si une végétation en ayant accumulé est exportée hors du site. Ainsi, les mécanismes de rétention des ETM typiques du ruissellement vont surtout agir sur leur spéciation et leur mobilité mais pas sur leur teneur (*Tedoldi et al., 2016*). C'est pourquoi, ces processus dans les OGEP conduisent avec le temps à l'**accumulation** d'ETM dans les sols/substrats/sédiments, jusqu'à un éventuel transfert vers les eaux de sorties (lixiviation ou lessivage) (*Girard et al., 2011*).

La sédimentation, la filtration et la sorption sont les principaux mécanismes de rétention entrant en jeu pour les métaux dans des FPR, faisant de l'OGEP un puit de polluants. Lorsqu'ils sont présents sous forme **particulaire** (en majorité), ce sont les deux premiers processus qui entreront en jeu dans les OGEP, tandis que les ETM sous forme **dissoute** seront liés au processus d'adsorption. Le devenir des ETM particulaires dépendra donc de la granulométrie du sol/substrat (présence de sables), de sa structure (présence de macroporosités) et de la présence de la végétation (réduction des vitesses de ruissellement, voir paragraphe III-1.1). Concernant les ETM dissous, ils tendent à s'adsorber sur les racines et sur les matières organiques essentiellement car peu d'oxydes et hydroxydes sont présents dans les FPR. De plus, ils s'adsorbent préférentiellement aux particules fines et aux argiles des eaux de ruissellement ou du filtre (*Zgheib et al., 2012 ; Al-Rubaei et al., 2017*). De nombreux paramètres physico-chimiques entrent également en jeu dans le processus de sorption (adsorption et désorption), tels que le pH, l'oxygène dissous ou encore le potentiel d'oxydoréduction. Par exemple, un pH alcalin favorise l'adsorption des ETM en raison de l'augmentation des surface chargées négativement dans le sol/substrat (*Girard et al., 2011*). Les ETM étudiés (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) étant chargés positivement, une augmentation du pH se traduira donc par une mobilité plus faible. Les paramètres propres au sol/substrat qui influenceront la sorption des ETM sont la capacité d'échange cationique (CEC), la distribution granulométrique du sol/substrat, la surface spécifique des grains, les teneurs en carbone organique ainsi que les teneurs en minéraux argileux (*Girard et al., 2011*).

Les **MPO** sont soumis à des processus conservatifs comme les ETM, mais également destructifs. Les OGEP vont jouer un rôle de puit de MPO selon leur spéciation physique (dissout/particulaire). Tout d'abord, les mêmes phénomènes de sédimentation et filtration ont lieu pour les MPO **particulaires** (*Tedoldi et al., 2016*). Ils sont généralement peu biodisponibles sous cette forme, donc seront faiblement biodégradés ou absorbés. En revanche, leur volatilisation et photo dégradation pourra tout de même avoir lieu, en surface d'ouvrages seulement. Pour les MPO **dissous**, le phénomène de rétention principal reste l'adsorption, mais selon des mécanismes différents des ETM. En effet, n'étant pas chargés électriquement, c'est le caractère hydrophobe du composé qui déterminera son adsorption (Annexe 1-2). Les valeurs des paramètres physico-chimiques K_{oc} , K_{ow} et S_w (coefficients d'adsorption et solubilité) sont déterminantes pour leur rétention. Les MPO avec de fortes valeurs d'adsorption et de faibles valeurs de solubilité auront tendance à s'adsorber fortement aux phases solides, principalement organiques. En effet, la composante organique d'un sol/substrat/sédiment contient des groupements fonctionnels hydrophobes qui permettent l'adsorption des MPO (*Girard et al., 2011*). Ainsi, la rétention des MPO dissous dépendra des propriétés physico-chimiques du composé mais également des taux de matières organiques dans les sols/substrats, de la composition des matières organiques et du pH (qui contrôle l'état des groupements fonctionnels).

Des processus destructifs ont également lieu pour les MPO, il s'agit de ceux décrits précédemment : biodégradation par les microorganismes, photodégradation, volatilisation, absorption et phyto-dégradation. Ces différents processus permettent d'évaluer la **persistance** d'un MPO une fois retenu, c'est-à-dire le temps qu'il faudra à un système pour réduire les concentrations en *polluant* (*Girard et al., 2011*). Dans les OGEP et avec les MPO étudiés, (HAP, HCT, AP, BPA, PAE) la biodégradation par les microorganismes est le processus destructifs dominant, suivi de l'absorption par les plantes (mineure avec les plantes utilisées dans les FPR) (*LeFevre et al., 2014 ; LeFevre et al., 2011*), les constantes de photodégradation et de volatilisation des MPO étudiés étant faibles. La **biodégradation** est la plus efficace lorsque le polluant est dissous (biodisponibilité maximale), Cependant, certains auteurs ont mis en évidence la capacité des microorganismes à dégrader des MPO adsorbés, mais plus le processus d'adsorption était ancien, moins le composé avait tendance à être biodisponible et donc dégradé (*Hong*

et al., 2006), les liaisons étant plus stables. La biodégradation par les microorganismes est donc la voie la plus souhaitable si celle-ci conduit à une minéralisation complète du produit (libération de CO₂), car cela limite l'accumulation du polluant dans les sols. Cependant, une phase résiduelle est souvent observée lors de la dégradation de MPO (Fent et al., 2003 ; Langdon et al., 2011). Il s'agit d'une phase fortement adsorbée au sol/substrat, non biodisponible, qui s'accumule avec le temps car non dégradée ; les MPO peuvent donc également **s'accumuler** dans les OGEP avec le temps.

La Figure 1.10 et le Tableau 1.14 résumant finalement les différents processus ayant lieu dans un OGEP pour les ETM et MPO, et les paramètres qui leur sont associés. Ces différents processus permettent donc de conférer au massif filtrant et sédiment d'un FPR le rôle de **puits de micropolluants** (diminution des concentrations dans les eaux de sortie). Le devenir des ETM et MPO dépendra donc des propriétés du massif filtrant mais également de celles du composé. Finalement, seuls des processus destructifs permettront une réelle élimination de ces micropolluants dans un OGEP, ils ont essentiellement lieu pour les micropolluants organiques.

Tableau 1.14 : Les différents processus de rétention et d'élimination des micropolluants organiques et métalliques dans les OGEP et donc les FPR, et les paramètres associés permettant d'évaluer leur intensité.

| Processus | Paramètre utilisé (unité) | Micropolluant concerné | |
|------------|----------------------------|---|--------------|
| Physique | Sédimentation | Vitesse de chute (m/s) | ETM et MPO |
| | Filtration | Porosité du substrat (\emptyset) | ETM et MPO |
| | Photo-dégradation | Temps de demi-vie (j) ou taux de photo-dégradation (j ⁻¹) | MPO |
| | Volatilisation | Coefficient de Henry (Pa.m ³ /mol) | MPO (et ETM) |
| Chimique | Adsorption | Coefficient de partage K _d (L/kg) | ETM |
| | | Coefficient de partage K _{oc} et K _{ow} (L/kg) | MPO |
| | Précipitation | Solubilité (mg/L) | ETM et MPO |
| | Complexation | Coefficient de partage K _d et K _{oc} (L/kg) | ETM et MPO |
| Biologique | Biodégradation | Temps de demi-vie (j) ou taux de biodégradation (j ⁻¹) | MPO |
| | Absorption par les plantes | Coefficient de partage K _{ow} (L/kg) | MPO |
| | | Coefficient de partage K _d (L/kg) | ETM |

Cependant, les OGPE et donc les FPR peuvent également devenir une **source de micropolluants** lorsqu'ils permettent leur remobilisation (Girard et al., 2011 ; Tedoldi et al., 2016). Différents mécanismes peuvent conduire à la libération de MPO et ETM :

- L'apport de cations en forte concentration (sel de déglacage riche en sodium par exemple) peut favoriser leur sorption au profit d'autres ETM déjà sorbés, libérant alors les ETM dans la solution (Marsalek, 2003 ; Flanagan et al., 2019a).
- La modification du pH ou du potentiel redox peut modifier les équilibres de précipitation (des carbonates ou hydroxydes qui contiennent des ETM ou des ETM eux-mêmes) pouvant conduire à la solubilisation des MPO ou ETM (Girard et al. 2011).
- L'apport d'importants volumes d'eau après un séchage peut lixivier les ETM et MPO lié à des différences importantes de concentrations, transportant alors les polluants vers le fond des ouvrages (Blecken et al. 2009).
- La biodégradation des matières organiques par les microorganismes peut libérer les MPO et ETM anciennement sorbés (Girard et al. 2011).
- L'infiltration de l'eau au travers des matériaux composant le filtre peut libérer des MPO et ETM qui composaient initialement les matériaux (Flanagan et al., 2018).

- Le lessivage de colloïdes ayant adsorbés des MPO et ETM peut également être une source de MPO et ETM, sans passer par la désorption.

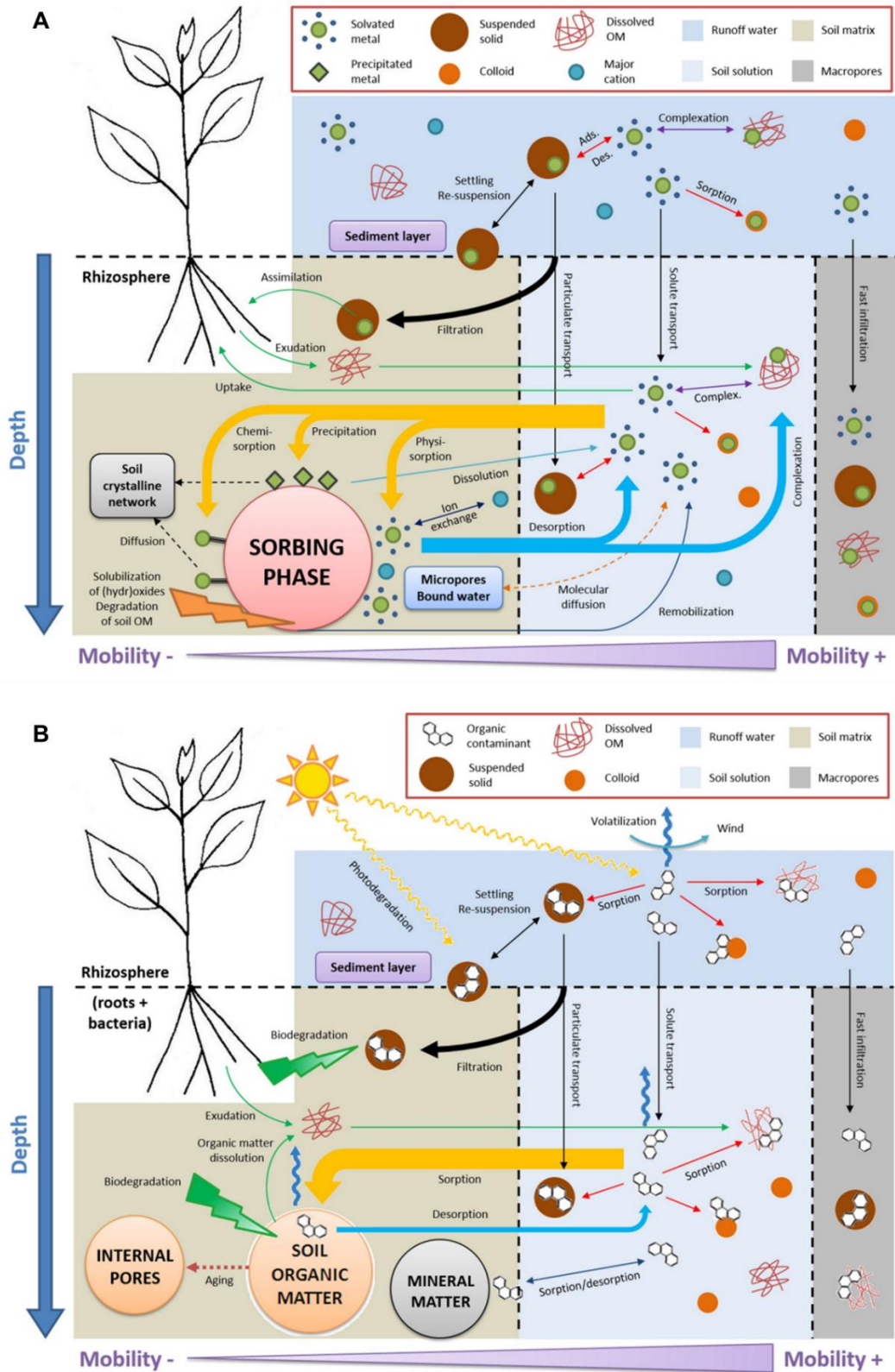


Figure 1.10 : Synthèse des différents processus de rétention, d'élimination et de source de ETM (A) et de MPO (B) dans un sol, substrat ou sédiment (issue de Tedoldi et al., 2016).

Un outil pour mesurer la spéciation et donc le degré de rétention d'un métal dans un sol/substrat existe, il s'agit des **extractions séquentielles**. C'est une méthode chimique permettant d'étudier la spéciation opérationnelle d'ETM c'est-à-dire la localisation d'un élément dans les différentes phases solides d'un échantillon (Cornu, 2000). L'extraction séquentielle est une extraction réalisée en plusieurs étapes, par application successive de différents réactifs chimiques (solutions chimiques) spécifiques des phases porteuses des ETM et d'intensités croissantes au même échantillon solide. Cela permet de dissoudre et d'extraire successivement les différentes phases organiques et minérales du sol, et de libérer les ETM associés (Bacon et Davidson, 2008) qui sont ensuite dosés dans la phase liquide (analyse indirecte). Les ETM extraits au début du processus donc sont généralement les plus faiblement liés à la phase solide, ils ont ainsi une mobilité potentielle et un impact environnemental plus important par rapport à ceux libérés plus tard. Les fractions obtenues ne sont donc pas définies de façon minéralogique, mais par le mode opératoire utilisé (extractant et conditions d'extraction) (Cornu, 2000). Cette méthode a été initialement développée par Tessier et al. en 1979 et par la suite, une procédure normalisée a été mise en place en Union Européenne par le Bureau Commun de Référence (BCR, Community Bureau of Reference) en 1993 (Ure et al., 1993). Ce protocole a ensuite été modifié (Rauret et al., 1999) pour devenir le protocole **BCR 1999**. Ce protocole d'extraction définit 4 fractions d'ETM : la fraction "acido-soluble" (échangeable et liée aux carbonates), la fraction "réductible" (liée aux oxydes), la fraction "oxydable" (liée aux matières organiques), et la fraction "résiduelle". Cependant, malgré une normalisation, les études s'accordent généralement pour conclure que ce type d'extraction n'est pas strictement sélectif d'une phase donnée, que l'efficacité d'extraction dépend du métal ciblé (Cornu, 2000), et que des phénomènes de réadsorption peuvent se produire au cours des étapes d'extraction (Bacon et Davidson, 2008). Malgré cela, ces extractions restent suffisamment riches en informations et simples à mettre en place pour permettre un diagnostic.

Søberg et al. (2019) ont étudié la désorption potentielle de ETM sorbés sur des matériaux filtrants d'OGEP à l'aide d'extractions séquentielles. Bien que tous les matériaux testés adsorbent rapidement plus de 90 % des ETM dissous, ils étaient majoritairement adsorbés à la phase échangeable (1^{ère} étape de l'extraction), indiquant alors que l'adsorption pouvait être réversible en raison du faible degré de sorption. Les conditions influencées par les périodes de temps de pluie et temps sec peuvent également favoriser la désorption ; Blecken et al. (2009) ont montré que des ETM étaient libérés après une période de temps sec élevée (plus de 3 semaines) ; le maintien d'une zone saturée en eau permettrait de limiter la désorption des métaux. Les mécanismes de désorption des MPO ont été moins étudiés que ceux des ETM. Les HAP peuvent se désorber et être libérés dans l'eau par leur remise en suspension lors d'apports d'eau, liés aux changements de conditions environnementales. Leur remise en suspension permet leur plus grande biodisponibilité (biodégradation favorisée) mais également leur transport si des macropores ou bioturbations sont présents (Zhao et al., 2021). Une adsorption/désorption dynamique des HAP a lieu entre le système sol-eau de façon générale ; les HAP à faible poids moléculaire ont tendance à subir une désorption plus rapide et demandant moins d'énergie que ceux à haut poids moléculaire (Zhao et al., 2021). La libération de micropolluants par l'OGEP est donc d'un **point de vigilance** à avoir lors de l'étude de FPR (notamment les plus âgés).

II-4.2. Devenir des métaux

Si l'efficacité épuratoire est aujourd'hui bien documentée pour les FPR à écoulement vertical, c'est moins le cas pour l'accumulation des ETM au sein du massif filtrant et des sédiments. Très peu d'articles ayant étudié la distribution des ETM dans un FPR-V traitant des eaux de ruissellement urbaines ont été trouvés (5 articles trouvés). Ils sont synthétisés dans le Tableau 1.15. Afin de mieux appréhender le devenir des ETM dans un OGEP, d'autres types d'ouvrages doivent donc être également étudiés.

II-4.2.1. Niveaux de contamination

Tout d'abord, il est important de rappeler le caractère **conservatif** des métaux. Ils continuent de s'accumuler avec le temps dans les OGEP (Gill et al., 2017 ; 2014 ; Tedoldi et al., 2016), c'est pourquoi il est important de surveiller cette accumulation. En surface de FPR-V traitant les eaux de ruissellement, les teneurs en ETM dans les **sédiments** (issues de la littérature) varient entre 0,91 et 1,2 mg/kg pour le Cd, entre 11,8 et 100 mg/kg pour le Cr, entre 13,7 et 236,7 mg/kg pour le Cu, entre 18,7

et 35,0 mg/kg pour le Ni, entre 10,1 et 294 mg/kg pour le Pb et entre 131 et 2270 mg/kg pour le Zn (Tableau 1.15, *Gill et al., 2014 ; Schmitt et al., 2015 ; Gill et al., 2017 ; Walaszek et al., 2018 ; Lenormand et al., 2022a*). Dans le sable de surface, ces valeurs variaient entre 20,4 et 73,02 mg/kg pour le Cr, entre < LQ et 42,68 mg/kg pour le Cu, entre 12,7 et 21,55 mg/kg pour le Ni, entre < LQ et 46,88 mg/kg pour le Pb et entre 20,9 et 1082,1 mg/kg pour le Zn (Tableau 1.15, *Gill et al., 2014 ; Schmitt et al., 2015 ; Gill et al., 2017 ; Walaszek et al., 2018 ; Lenormand et al., 2022a*). Pour ces différentes études, le Zn était systématiquement le métal le plus accumulé, suivi du Pb et Cu et enfin Cr, Ni et Cd. Cela est cohérent avec les concentrations mesurées dans les eaux de ruissellement urbaines (cf. I-5.4). Le Cr et le Ni étaient mieux retenus dans le FPR-V que dans le bassin de sédimentation lorsque ces deux ouvrages étaient mis en série, lié à leur caractère plus dissout que les autres ETM (*Schmitt et al., 2015*). Concernant l'évolution avec le temps, trois différentes thèses ont été réalisées sur le même FPR (bassin de sédimentation suivi d'un FPR-V, *Schmitt, 2014 ; Walaszek, 2018b ; Lenormand, 2022*) vieillissant progressivement. Malheureusement, les protocoles d'étude des substrats et sédiments n'étaient pas similaires donc la comparaison est complexe. L'évolution de FPR-V avec le temps n'est donc pas étudiée à ce jour. Seul *Walaszek et al., (2018)* ont évalué l'évolution de l'accumulation sur un an dans le sédiment et le massif filtrant des deux ouvrages ; les sédiments ont accumulé du Cu, Pb et Zn, avec par exemple les teneurs en Zn passant de 426 à 2270 mg/kg (Tableau 1.15). Concernant le FPR-V, les différentes couches du FPR ont perdu du Cu, n'ont pas significativement accumulé du Pb mais on significativement accumulé du Zn, uniquement dans la couche de surface. La tendance à l'accumulation dépend ainsi du métal et de la nature de la phase solide. Enfin, après une comparaison de nombreux ouvrages différents, *Tedoldi et al. (2016)* ont conclu qu'aucun lien entre les teneurs en surface et l'âge de l'OGEP ou l'intensité du trafic n'était trouvé.

La surface des OGEP est la partie importante à considérer car il s'agit de la partie accessible. Ainsi, il est intéressant de comparer ces teneurs avec des valeurs de référence. Les ordres de grandeur (présentés dans le Tableau 1.15) seront ainsi comparés avec des valeurs seuils imposées par des législations dans le paragraphe II-7.

II-4.2.2. Distribution verticale de la contamination :

La littérature dans les FPR-V et autres OGEP a démontré une **diminution rapide** des teneurs en ETM avec la **profondeur**.

Dans un premier temps, une forte différence de teneurs en ETM s'observe entre le sédiment qui s'accumule en surface et le massif filtrant (sable de surface). Les études de *Schmitt et al. (2015), Walaszek et al. (2018) et Lenormand et al. (2022a)* (Tableau 1.15) ont montré que le sédiment retenu dans le bassin de sédimentation était bien plus contaminé en ETM que le substrat du FPR-V. La majorité des ETM étant présente sous forme particulaire (cf. Chapitre I), le phénomène de sédimentation explique ces résultats. *Gill et al. (2017)* ont seulement étudié des sédiments présents au sommet d'un FPR-V ; ils ont mesuré des teneurs similaires à celles mesurées par *Lenormand et al. (2022a)* pour le Cd (autour de 1 mg/kg), Cu (autour de la 100^{aine} de mg/kg), Ni (autour de 30 mg/kg), et Pb (autour de la 100^{aine} de mg/kg). En revanche, le Cr et Zn étaient plus concentrés dans le sédiment de l'étude de *Lenormand et al. (2022a)* (100aine de mg/kg contre 30aine de mg/kg pour le Cr, Presque 2000 mg/kg contre presque 1000 mg/kg pour le Zn). Dans l'étude de *Walaszek et al. (2018)*, les sédiments accumulés à la surface d'un FPR-V (n'ayant donc pas sédimenté dans le bassin localisé en amont) présentaient des teneurs plus fortes que la couche de sable organique sous-jacente. En effet, les teneurs de Cu, Pb et Zn après 5 ans de fonctionnement étaient de 14,5, 22 et 401 mg/kg respectivement dans le sédiment et inférieures à la LQ, de 3,8 et 53,1 mg/kg dans le sable sous-jacent. Ainsi, même si toutes les particules n'étaient pas piégées dans le bassin de sédimentation, la surface sableuse du FPR permettait une rétention suffisante des particules restantes. Pour finir, aucun article ayant étudié le sédiment et le massif filtrant au sein d'un FPR n'a été trouvé (pas de bassin de sédimentation en amont). Ainsi, il faut se référer à d'autres types d'OGEP.

Dans une noue enherbée traitant les eaux de ruissellement, *Kluge et al. (2018)* ont étudié l'accumulation de ETM dans le sédiment et le sol de l'OGEP et ont montré une accumulation beaucoup plus importante dans le sédiment pour tous les ETM : 130 contre 40 mg/kg pour le Pb, 1,5 contre 0,4 mg/kg pour le Cd, 160 contre 20 mg/kg pour le Cu et 1800 contre 160 mg/kg pour le Zn, dans le sédiment et le sol de surface respectivement. Ainsi, le sédiment contenait 3,25, 3,75, 8, et 11,25 fois plus de Pb, Cd, Cu et Zn respectivement que dans le sol de surface.

Tableau 1.15 : Teneurs moyennes (et leurs écart-types lorsqu'ils étaient disponibles) en ETM retrouvées dans la littérature (8 publications) dans des FPR traitant les eaux de ruissellement uniquement. ▲ Valeur moyenne mesurée en amont de l'OGEP ; l Valeur moyenne mesurée en aval de l'OGEP ; ■ Valeur moyenne des valeurs mesurées après 4 ans de fonctionnement ; u Valeur moyenne des valeurs mesurées après 5 ans de fonctionnement.

| Ouvrage | Age (an) | BV capté | Nature du solide | Teneur (mg/kg) - moyenne (écart-type) | | | | | | Référence |
|------------------------------------|----------|-----------|--|---|---|--|--|---|--|------------------------------|
| | | | | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | |
| FPR-V | 6 | | Sédiment composite de surface | 0,91 | 17 | 62,1 | 20,1 | 37,5 | 269,3 | Gill et al. (2014) |
| FPR-V | 9 | Autoroute | Sédiment de surface | 1,1 (0,27) 1,2 (0,06) ▲ 1,02 (0,22) l | 31,6 (17,8) 51,3 (1,2) ▲ 11,8 (3,6) l | 124,4 (91,3) 236,7 (5,8) ▲ 27,0 (14,2) l | 27,7 (8,93) 35,0 (4,4) ▲ 18,7 (5,0) l | 97,2 (63,7) 163,3 (11,5) ▲ 27,9 (11,2) l | 677,8 (521,4) 1286,7 (51,3) ▲ 131 (66,4) l | Gill et al. (2017) |
| Bassin de sédimentation puis FPR-V | 2 | Urbain | Sédiment du bassin | - | 67,7 ▲ 77,2 l | 84,7 ▲ 51,7 l | 31,8 ▲ 23,3 l | 294 ▲ 89,5 l | 2096 ▲ 838 l | Schmitt et al. (2015) |
| | | | Sable de surface du FPR | - | 21,7 ▲ 20,4 l | 10,8 ▲ 8,8 l | 13,3 ▲ 12,7l | 8,8 ▲ < LQ l | 85,7 ▲ 20,9l | Schmitt et al. (2015) |
| Bassin de sédimentation puis FPR-V | 4 et 5 | Urbain | Sédiment composite du bassin | - | - | 13,71 ■ 97,1 u | - | 10,1 ■ 260 u | 426 ■ 2270 u | (Walaszek et al. (2018) |
| | | | Substrat composite du filtre à 3 profondeurs (dépôt organique L1, sable de surface L2 et sable profond L3) | - | - | L1 35,6 ; L2 12,8 ; L3 7,55 ■ L1 14,5 ; L2 et L3 < LQ u | - | L1 27,2 ; L2 8 ; L3 2,7 ■ L1 22 ; L2 3,8 ; L3 7,6 u | L1 106 ; L2 512 ; L3 86,6 ■ L1 401 ; L2 53,1 ; L3 7,8 u | (Walaszek et al. (2018) |
| Bassin de sédimentation puis FPR-V | 8 | Urbain | Sédiment composite du bassin | 0,99 (0,04) | 100,3 (5,4) | 105,7 (6,2) | 31,3 (0,9) | 162,6 (14,5) | 1786,7 (129) | Lenormand et al. (2022a) |
| | 9 | Urbain | Sable composite de surface du FPR-V | - | 73,02 | 42,68 | 21,55 | 46,88 | 1082,1 | Lenormand et al. (2022b) |
| - | - | - | - | Sédiment (0,91-1,2) Sable (-) | Sédiment (11,8-100,3) Sable (20,4-73,02) | Sédiment (13,71-236,7) Sable surface (< LQ-42,68) | Sédiment (18,7-35,0) Sable (12,7-21,55) | Sédiment (10,1-294) Sable surface (< LQ-46,88) | Sédiment (131-2270) Sable surface (20,9-1082,1) | Synthèse (min-max) |

En considérant uniquement le massif filtrant maintenant, la littérature a également démontré une diminution rapide des teneurs en ETM avec la profondeur, la majorité de la contamination étant généralement retenue dans les **dix premiers centimètres du massif** (Dans des FPR : *Walaszek et al., 2018 ; Lenormand et al., 2022b* ; dans d'autres OGEP : (*Dechesne et al., 2004 ; Winiarski, 2006 ; Aryal et al., 2007 ; Li et Davis, 2008 ; Jones et Davis, 2013 ; Paus et al., 2014 ; Johnson et Hunt, 2016 ; Tedoldi et al., 2016 ; Al-Ameri et al., 2018 ; Kluge et al., 2018 ; Flanagan et al., 2019b ; Venvik, 2019 ; Costello et al., 2020*). En effets dans un FPR-V, *Walaszek et al. (2018)* ont montré des différences significatives de teneurs en ETM entre le sable organique de surface et le sable sous-jacent, non organique. *Lenormand et al. (2022b)* ont également montré cela dans le même FPR-V, plusieurs années de fonctionnement après. Même si aucun lien entre l'âge de l'ouvrage et les teneurs n'a été montré, *Tedoldi et al. (2016)* ont conclu après l'étude de nombreux OGEP que l'âge impactait plutôt la **forme** du profil de contamination (teneur selon la profondeur). Pour les ouvrages récents (< 10^{aine} d'années), la diminution des teneurs avec la profondeur était forte, la majorité des ETM était localisée être 2,5 et 10 cm puis les teneurs restaient constantes avec la profondeur. Pour les ouvrages plus anciens (entre 10 et 30 ans), la zone de transition entre la couche plus contaminée et la moins contaminée se situait à plus de 10 cm de profondeur, elle pouvait même atteindre 25 cm de profondeur (*Kluge et al., 2014*), mettant en évidence une propagation vers la profondeur de la zone contaminée. Cela s'explique par la saturation progressive des pores et des sites d'adsorptions dans les premiers centimètres du massif filtrant avec le temps. Les ETM migrent donc plus bas dans l'ouvrage.

Ainsi, la rétention des métaux dans les OGEP et FPR a préférentiellement lieu dans les horizons de surface, d'abord dans le sédiment, puis dans la couche de surface, sous le sédiment. Cela est dû au massif filtrant, qui permet la sédimentation en surface puis la filtration dans la couche de substrat de surface. Les ETM dissous s'adsorbent également dès qu'ils ont la possibilité, donc dès qu'ils arrivent, sur la surface de l'OGEP. La Figure 1.11A représente un profil typique des ETM dans un OGEP permettant la bonne visualisation de la distribution verticale des métaux.

II-4.2.3. Distribution horizontale de la contamination :

La littérature dans les FPR-V et autres OGEP a démontré une **diminution** des teneurs en ETM avec **l'éloignement de l'arrivée d'eau**.

En effet, les teneurs en ETM sont toujours corrélées soit avec les tuyaux d'arrivée d'eau (apport indirect), ou bien avec la zone qui relie l'OGEP et la zone de ruissellement (apport direct) (*Pagotto et al., 2001 ; Dechesne et al., 2004 ; Jones et Davis, 2013 ; Schmitt et al., 2015 ; Tedoldi et al., 2016 ; Johnson et Hunt, 2016 ; Tedoldi et al., 2017 ; Gill et al., 2017 ; Al-Ameri et al., 2018 ; Flanagan et al., 2019b ; Venvik, 2019 ; Venvik et Boogaard, 2020 ; Costello et al., 2020 ; Lenormand et al., 2022b*). Dans l'étude de *Lenormand et al. (2022b)*, une interpolation des teneurs en ETM en surface d'un FPR-V a été réalisée, montrant une nette corrélation entre les tuyaux d'entrée d'eau et leurs teneurs. Cela est très bien illustré pour le Cu, Zn et Pb, la carte du Zn est représentée sur la Figure 1.11B. Dans un autre FPR-V, *Gill et al. (2017)* ont montré que la zone amont accumulait bien plus que les autres zones pour tous les ETM : 237, 163 et 1287 mg/kg de Cu, Pb, Zn en amont contre 124, 97 et 678 mg/kg en moyenne dans le FPR entier (toutes zones confondues). Les FPR présentent généralement des tuyaux pour les alimenter, ainsi, il faut observer d'autres types d'OGEP pour évaluer la distribution horizontale sans tuyaux d'alimentation. Dans l'étude de *Tedoldi et al. (2017)*, une noue enherbée accueillant le ruissellement parallèlement à sa longueur avait également des teneurs en ETM significativement plus élevées dans la partie accueillant les eaux. De plus, la Figure 1.11A permet de constater que la contamination en profondeur est également plus faible lorsqu'on s'éloigne de l'entrée d'eau (teneurs en tirets toujours inférieures aux teneurs en continu sur la figure). *Flanagan et al., (2017)* ont également montré qu'une bande enherbée placée le long d'une route (apport de l'eau tout le long de l'ouvrage) accumulait significativement plus d'ETM dans les 30 cm les plus proches de la route (sur 180 cm).

Ces observations sont explicables par la nature essentiellement particulière des métaux. Sous forme particulière, les processus de rétention se font dès leur arrivée dans l'OGEP, conduisant à de plus fortes teneurs au niveau de l'arrivée d'eau (*Tedoldi et al., 2016 ; Lenormand et al., 2022b*). L'adsorption se fait également dès l'arrivée des métaux dissous dans l'OGEP.

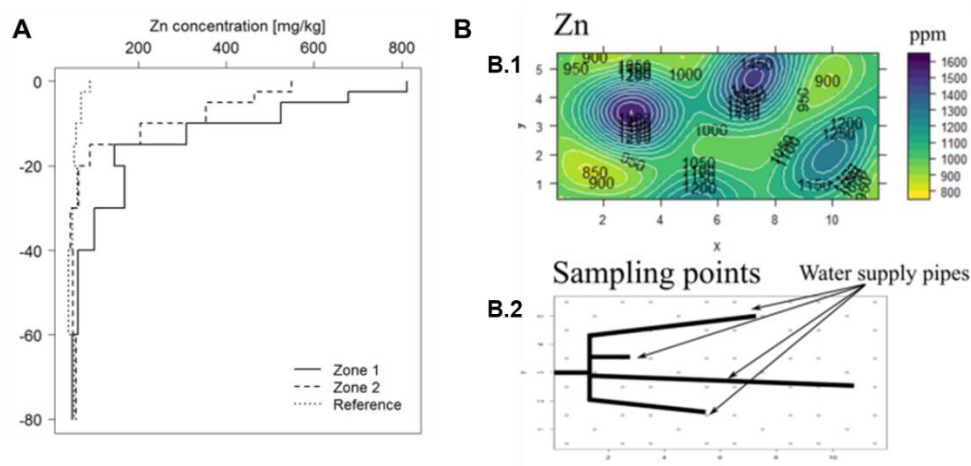


Figure 1.11 : Exemple de la distribution verticale et horizontale du Zn. **A** : Distribution verticale du Zn (profil) dans un OGEP (bassin d'infiltration), issu de Tedoldi et al. (2017). La zone 1 correspond aux teneurs dans la zone d'entrée de l'eau, la zone 2 aux teneurs dans une zone plus en aval et la référence aux teneurs dans un sol de référence non contaminé. **B** : Distribution horizontale du Zn dans un FPR-V (B.1), et localisation des points d'arrivée d'eau (B.2), issu de Lenormand et al. (2022b).

II-4.3. Devenir des micropolluants organiques

Le devenir des MPO dans les FPR est encore moins documenté que les ETM et seuls les HAP ont été étudiés dans ce type d'OGEP traitant les eaux de ruissellement urbaines. Les articles sont synthétisés dans le Tableau 1.16. Afin de mieux appréhender le devenir des MPO dans un OGEP, d'autres types d'OGEP doivent donc être également étudiés.

II-4.3.1. Niveaux de contamination

Dans les sédiments de surface d'un bassin de sédimentation en amont d'un FPR-V, les teneurs moyennes globales en HAP les plus importantes étaient retrouvées pour le Phen (entre 0,25 et 0,68 mg/kg), Fluo (entre 0,3 et 1,3 mg/kg), Pyr (entre 0,18 et 0,87 mg/kg), Chry (entre 0,2 et 0,67 mg/kg) et BbF (entre 0,42 et 0,94 mg/kg) (Tableau 1.16, Walaszek et al., 2018 ; Lenormand, 2022). Strömvall et al. (2007) et Tedoldi et al. (2017) ont également montré que ces cinq HAP étaient les plus abondants dans d'autres types d'OGEP. Cela est cohérent avec les concentrations généralement mesurées dans les eaux de ruissellement présentées dans le paragraphe I-6.4. L'A, BaA, BkF, BaP, BPer et IP étaient moins concentrés (entre 0,08 et 0,59 mg/kg) et le Nap, Acyl, Acen, F et DahA étaient les HAP les plus faiblement concentrés (entre < LQ et 0,19 mg/kg) (Tableau 1.16).

Contrairement aux ETM, Tedoldi et al. (2016) ont conclu dans leur revue bibliographique que les teneurs en surface des HAP semblaient dépendre de l'âge de l'OGEP et de la nature de son bassin versant. Concernant les MPO émergents (AP, BPA, PAE), Strömvall et al. (2007) en ont mesuré dans le sédiment d'un bassin de rétention des teneurs, avec l'ordre suivant : DEHP (23 mg/kg) > NP₁EO (5,3 mg/kg) > 4-NP (3,1 mg/kg) > NP₂EO (1,5 mg/kg) > 4-OP (0,16 mg/kg) > OP₁EO (0,051 mg/kg) > OP₂EO (0,011 mg/kg). Dans le sol d'une noue en bordure de route, Flanagan et al. (2019b) ont mesuré des teneurs plus faibles, avec l'ordre DEHP (1,99 mg/kg) > 4-NP (0,460 mg/kg) > NP₁EO (0,27) > 4-OP (0,058 mg/kg) > BPA (0,03 mg/kg) > NP₂EO, OP₁EO et OP₂EO (entre inférieur à la LQ et 0,006 mg/kg). Les OMPs émergents les plus retrouvés dans les OGEP sont donc le DEHP, le 4-NP et le NP₁EO, les deux premiers étant généralement les plus concentrés dans les eaux de ruissellement (voir chapitre 1). Comme les ETM, l'évolution dans le temps des teneurs en MPO dans un FPR n'a pas encore été étudié à ce jour.

Contrairement aux ETM, les MPO ont une nature destructive, ainsi leur accumulation dans les OGEP et donc les FPR n'est pas leur seul devenir. Il est donc plus complexe d'étudier leur devenir une fois retenus dans les OGEP car ils ne font pas que s'accumuler. Les HAP à faible poids moléculaire étaient souvent moins concentrés (voire inférieurs à la LQ) dans toutes les zones des OGEP que ceux à haut poids moléculaire (DiBlasi et al., 2009 ; Tedoldi et al., 2017 ; Walaszek et al., 2018 ; Lenormand, 2022 ; Yuan et al., 2023), même en surface. Cela suggère la présence de mécanismes destructifs, plus

importants au niveau des HAP à faible poids moléculaire. Les HAP à haut poids moléculaire auront tendance à plus s'accumuler. Plusieurs études ont montré que la biodégradation était un processus important dans les OGEP pour diminuer les teneurs en OMPs dans les substrats/sédiments (*LeFevre et al., 2012 ; Leroy et al., 2015*). La Partie III fournira les informations nécessaires pour l'étude de leur dégradation, ainsi, ce ne sera pas détaillé dans cette partie.

Enfin, comme pour les ETM, les ordres de grandeur (présentés dans le Tableau 1.16) seront comparés avec des valeurs seuils imposées par des législations dans le paragraphe II-7.

II-4.3.2. Distribution verticale de la contamination :

Le peu d'article ayant étudié les MPO dans le sédiment et le massif filtrant dans des FPR-V a montré, comme pour les ETM, une **diminution rapide des teneurs avec la profondeur**.

Dans un bassin de sédimentation suivi d'un FPR-V, *Schmitt et al. (2015)* ont quantifié les 16 HAP prioritaires dans tous les échantillons de sédiment du bassin (entre 0,15 et 0,95 mg/kg, tous les HAP confondus), mais toutes les teneurs étaient inférieures à la LQ dans le FPR-V donc la majorité des HAP se retrouvait dans les sédiments. Quelques années de fonctionnement plus tard, *Walaszek et al. (2018)* ont quantifié ces HAP dans les sédiments, et 5 HAP étaient maintenant quantifiés dans le dépôt de surface du FPR-V initialement absent du FPR lors de l'étude de *Schmitt et al. (2015)* (fluoranthène, pyrène, benzo(b)fluoranthène, benzo(g,h,i)peryène et Indeno(1,2,3-cd)pyrène) à des teneurs plus faibles que le sédiment du bassin (entre inférieures à LQ et 0,091 mg/kg contre entre inférieures à LQ et 1,3 mg/kg dans le dépôt de surface du FRP et dans le sédiment respectivement, tous les HAP confondus). Les sédiments semblent donc accumuler la majorité des HAP.

Au sein d'un même FPR-V, seule l'étude de *Walaszek et al. (2018)* a quantifié les teneurs en HAP dans l'ensemble du FPR ; la première couche du filtre, le dépôt de surface, était la seule couche ayant des teneurs supérieures à la LQ (pour 5 composés seulement). Ainsi, la majorité des HAP était retenue dans le sédiment du bassin, puis dans la couche de dépôt de surface du FPR (Tableau 1.16). En ce qui concerne d'autres types d'OGEP, *Tedoldi et al. (2017)* ont mesuré les teneurs en 13 HAP selon la profondeur de 6 différents OGEP (bassins d'infiltration et noues). Comme pour les ETM, l'accumulation de HAP avait essentiellement lieu en surface (jusqu'à 40 cm de profondeur), cependant, les teneurs les plus élevées n'étaient **pas toujours** dans la partie la plus en surface des ouvrages, et la tendance à la baisse le long du profil n'était pas aussi évidente. La Figure 1.12 donne un exemple de profils des HAP dans les ouvrages étudiés (*Tedoldi et al., 2017*). La majorité des HAP était donc plutôt accumulée entre 5 et 20 cm de profondeur. Ces observations démontrent que la sédimentation et filtration ne suffisent pas à expliquer ces valeurs, mais d'autres processus destructifs entrent également en jeu. La photodégradation et la biodégradation étant favorisés en surface de sols/substrats (plus de lumière et biologiquement plus actif), cela expliquerait les plus faibles teneurs rencontrées dans les premiers centimètres des ouvrages étudiés. D'autres études ont également montré une accumulation plus importante d'HAP en surface d'OGEP (*Dechesne et al., 2004 ; 2005 ; Strömvall et al., 2007 ; DiBlasi et al., 2009 ; Napier et al., 2009 ; Bu et al., 2009 ; Yuan et al., 2023*). L'étude de MPO émergents est plus récente dans les OGEP, très peu d'articles existent (aucun dans les FPR pour le traitement des eaux de ruissellement). *Flanagan et al. (2019b)* ont étudié les teneurs en ces MPO dans une noue placée en bordure de route, à différentes localisations et profondeurs. Les résultats présentés sont issus de données supplémentaires à l'article. Dans la partie la plus contaminée de l'OGEP, les teneurs en 4-NP, 4-OP et BPA étaient respectivement de 0,41, 0,015 et 0,025 mg/kg entre 0 et 5 cm, de 0,26, 0,008 et 0,037 mg/kg entre 5 et 15 cm et de 0,28, 0,018 et 0,038 entre 15 et le fond de l'ouvrage. Ainsi, les teneurs en BPA et 4-OP étaient similaires entre les profondeurs, mais une décroissance s'observait pour le 4-NP seulement, entre la première profondeur et les deux autres.

Ainsi, comme les ETM, la majorité des HAP étant présente sous forme particulaire, les processus de sédimentation dans le bassin et les processus de filtration dans le FPR-V dominant, expliquant l'accumulation en surface. Cependant, les teneurs augmentent souvent après quelques centimètres de profondeur en raison des processus destructifs ayant lieu dans cette zone, avant de diminuer avec la profondeur (*Tedoldi et al., 2017*). Pour les autres MPO, il n'y a à ce jour pas assez de données pour conclure réellement sur leurs tendances.

Tableau 1.16 : Teneurs moyennes (et leurs écart-types lorsqu'ils étaient disponibles) en HAP retrouvées dans la littérature (3 publications) dans des FPR traitant les eaux de ruissellement uniquement . ▲ Valeur moyenne mesurée en amont de l'OGEP ; ● Valeur moyenne mesurée en aval de l'OGEP.

| Ouvrage | Age (an) | Type d'eau | Prélèvement | Teneur (mg/kg) - moyenne (écart-type) | | | | | | | | | | | | | | | | Σ HAP | Référence |
|---|----------|------------|--------------------------------------|---------------------------------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------------------|
| | | | | Nap | Acyl | Acen | F | Phen | A | Fluo | Pyr | BaA | Chry | BbF | BkF | BaP | DahA | BPer | IP | | |
| Bassin de sédimentation puis FPR-V | 2 | Urbain | Sédiment du bassin | 0,15▲ 0,03● | 0,15▲ 0,06● | 0,17▲ 0,01● | 0,18▲ 0,05● | 0,68▲ 0,25● | 0,34▲ 0,08● | 0,95▲ 0,3● | 0,87▲ 0,18● | 0,57▲ 0,25● | 0,67▲ 0,2● | 0,94▲ 0,46● | 0,38▲ 0,14● | 0,59▲ 0,29● | 0,19▲ 0,12● | 0,57▲ 0,34● | 0,52▲ 0,28● | - | Schmitt et al. (2015) |
| Bassin de sédimentation puis FPR-V | 5 | Urbain | Sédiment composite du bassin | < LQ | 0,13 | < LQ | < LQ | 0,66 | 0,2 | 1,3 | 0,79 | 0,4 | 0,54 | 0,73 | 0,49 | 0,41 | < LQ | 0,34 | 0,49 | - | Walaszek et al. (2018) |
| | | | Couche L1 du FPR (seule couche > LQ) | < LQ | < LQ | < LQ | < LQ | < LQ | < LQ | 0,091▲ 0,071● | 0,053▲ < LQ● | < LQ | < LQ | 0,076▲ < LQ● | < LQ | < LQ | < LQ | < LQ | 0,053● | 0,064● | |
| 3 Bassins de sédimentation puis 3 FPR-V | 8 | Urbain | Sédiment composite du bassin | < LQ | 0,115 (0,01) | < LQ | < LQ | 0,34 (0,04) | 0,155 (0,01) | 0,61 (0,07) | 0,52 (0,06) | 0,163 (0,04) | 0,30 (0,03) | 0,42 (0,04) | 0,16 (0,04) | 0,217 (0,07) | 0,097 | 0,217 (0,04) | 0,24 (0,08) | 3,18 (1,23) | Lenormand 2022 |
| - | - | - | - | < LQ- 0,15 | 0,06- 0,15 | < LQ- 0,17 | < LQ- 0,18 | 0,25- 0,68 | 0,08- 0,34 | 0,3-1,3 | 0,18- 0,87 | 0,16- 0,57 | 0,2- 0,67 | 0,42- 0,94 | 0,14- 0,49 | 0,22- 0,59 | < LQ- 0,19 | 0,22- 0,57 | 0,24- 0,52 | 3,18 | Synthèse sédiment (min-max) |

II-4.3.3. Distribution horizontale de la contamination :

Bien que très peu d'études se soient intéressées à la distribution horizontale des MPO, et qu'elles aient été réalisées avec une résolution spatiale plus faible, la littérature dans les FPR-V et autres OGEP a tout de même montré une **diminution** des teneurs en MPO avec l'**éloignement de la localisation de l'arrivée d'eau**.

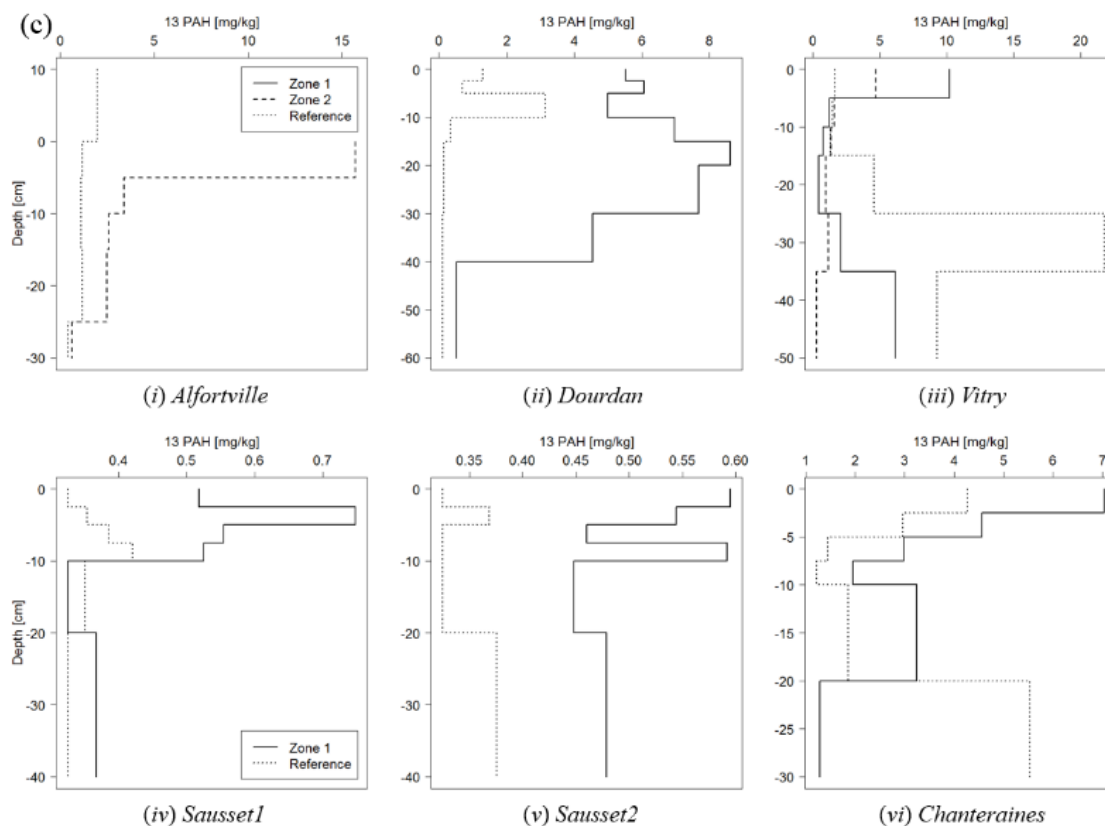


Figure 1.12 : Exemple de la distribution verticale de la somme de 13 HAP (profil) dans plusieurs OGEP (bassins d'infiltration et noues), issu de Tedoldi et al., (2017).

En effet, l'étude de Schmitt et al. (2015) a montré une accumulation significativement plus importante pour tous les HAP détectés dans le sédiment de la partie amont d'un bassin de sédimentation par rapport à la partie aval (après 2 ans de fonctionnement). Par exemple, 0,95 contre 0,3 mg/kg de fluoranthène étaient retrouvés entre l'amont et l'aval (Tableau 1.16). Cependant, Walaszek et al. (2018) n'ont ensuite montré aucune différence significative entre ces deux zones dans le sédiment du même ouvrage après 5 ans de fonctionnement. En revanche, dans le massif filtrant du FPR-V, une différence de teneurs entre l'amont et l'aval s'observait dans cette même étude pour les HAP à faible poids moléculaire, lorsqu'ils étaient supérieurs à la LQ. Pour les HAP à haut poids moléculaire (BbPer et IP), les teneurs avaient tendance à être plus élevées en profondeur (0,052 contre 0,064 mg/kg en amont et aval respectivement pour l'IP) mais ce n'était pas significatif. Dans d'autres types d'OGEP, plusieurs études ont également conclu à une accumulation plus importante d'HAP près de la zone d'arrivée d'eau et à une décroissance avec son éloignement (Dechesne et al., 2004 ; DiBlasi et al., 2009 ; Napier et al., 2009 ; Istenič et al., 2011 ; Tedoldi et al., 2017). Par exemple, dans la Figure 12, les teneurs en 13 HAP en surface de l'ouvrage de Vitry (iii) étaient les plus élevées dans sa zone amont (Zone 1, Tedoldi et al., 2017). Cependant, Yuan et al. (2023) ont à l'inverse montré que les HAP s'accumulaient significativement plus avec l'éloignement de la zone d'arrivée d'eau dans une cellule de biorétention. Leur hypothèse était que les HAP étaient retenus par des particules fines, qui se déposaient ensuite à plus grande distance que les grosses particules. Enfin, aucune étude n'a à ce jour évalué la distribution horizontale des MPO émergents.

Ainsi, la sédimentation et filtration des particules contenues dans les eaux est également le mécanisme expliquant majoritairement les résultats présentés ici, tout comme les métaux. Il faudra cependant rester

vigilants concernant les MPO émergents dont l'étude est insuffisante aujourd'hui, car certains se retrouvent également en phase dissoute en proportion non négligeable (BPA par exemple).

Pour conclure, la distribution des ETM et MPO présente donc des tendances similaires, avec une accumulation plus importante près des zones d'arrivée d'eau et en surface des FPR. Le sédiment est toujours la partie la plus contaminée en MPO et ETM dans les FPR. Les MPO peuvent être les plus concentrés quelques centimètres après la surface de l'ouvrage, signe de processus destructifs ayant lieu dans les ouvrages. Enfin, les MPO émergents ne sont pas assez étudiés à ce jour dans les FPR.

II-5. Impact de l'environnement sur l'efficacité des FPR

L'environnement joue un rôle non négligeable sur la performance des FPR et ouvrages de façon générale.

Les **saisons** impactent les performances en raison des variations de **températures**, un paramètre très important qui influence de nombreux processus chimiques, physiques et biologiques. La température faible de l'hiver peut induire du gel dans les OGEP impactant alors les performances par la diminution du volume effectif du FPR (*Mungasavalli et Viraraghavan, 2006*). Un des effets de la température et de l'hiver est la dormance de la végétation, pourtant responsables en partie de l'élimination de composés et de la stimulation de l'activité microbienne (voir partie III-1) (*Stein et Hook, 2005*) ; cela a ainsi pour conséquence des efficacités plus faibles pour les polluants particuliers (*Lee et Scholz, 2007 ; Molle et al., 2013*), pour les polluants organiques (*Chang et al., 2007 ; Wang et al., 2023*) mais également pour les nutriments (azote, phosphore) (*Mungasavalli et Viraraghavan, 2006*). A l'inverse, en été les températures plus élevées stimulent les activités biologiques, ayant pour conséquence une augmentation du carbone organique dissous en sortie d'ouvrages, pouvant alors faciliter le transport des ETM dissous qui s'associent préférentiellement avec du carbone organique (*Flanagan et al., 2019a*). Cela était particulièrement significatif pour le cuivre.

Les **pratiques** dans les bassins versants changent avec les saisons également, modifiant alors les performances. L'exemple le plus étudié est l'utilisation de sel de déglacage pour limiter l'accumulation de glace ou neige sur les routes ; son utilisation induit une augmentation de la conductivité de l'eau de ruissellement pouvant alors augmenter la dispersion des colloïdes et donc augmenter la concentration en MES en sortie de l'OGEP (*Marsalek, 2003 ; Flanagan et al., 2019a*). Des phénomènes de désorption par échange ioniques peuvent également avoir lieu entre le sel (Na) et les métaux sorbés (*Marsalek, 2003*).

Les performances peuvent être impactées par l'**alternance de périodes de temps sec et temps de pluie** dans les FPR (contrairement à du continu pour les eaux usées par exemple). *Blecken et al. (2009)* ont montré par une étude en laboratoire d'un biofiltre végétalisé qu'en alimentation régulière, les efficacités d'élimination des ETM dépassaient 95 %. En revanche, lors d'événement pluvieux après au moins 3 semaines de temps sec, les performances étaient dégradées. Ils ont ainsi mis en évidence une régression significative entre la concentration en sortie et la durée du séchage antérieur du biofiltre. Cependant, en maintenant une zone saturée dans la partie basse du biofiltre pendant les temps secs, les performances globales des ETM étaient meilleures, liées à leur sorption plus forte et leur risque de désorption plus faible.

II-6. Amélioration des capacités épuratoires des FPR

Les études dans des OGEP ont montré leur meilleure performance pour le traitement des polluants présents sous forme particulaire (filtration) (*LeFevre et al., 2014 ; Flanagan et al., 2018*). Ainsi, afin d'améliorer les efficacités épuratoires des OGEP, **différentes méthodes** peuvent être mises en œuvre au niveau du **massif filtrant** de l'OGEP (*Yu et al., 2022*) :

Une première méthode est l'**ajout de matières organiques au substrat** déjà mis en place, par l'ajout de compost, tourbe, fumier d'animaux etc mélangés au substrat (*Dietz et Clausen, 2005 ; Davis,*

2007 ; Wu et al., 2015 ; Shrestha et al., 2018). Ces matériaux étant riches en sites de sorption, ils améliorent donc la rétention des ETM (cation) et polluants organiques (hydrophobes) notamment. Les travaux de modélisation de Tedoldi (2017) ont par exemple montré l'effet bénéfique d'un amendement organique dans un sol d'OGEP par l'augmentation de sa durée de vie en termes d'interception de polluants, et plus l'épaisseur était importante, plus le temps de saturation des sites de sorption était élevé.

Une autre méthode est l'**ajout d'un substrat amélioré** (matériau adsorbant) dans le FPR, d'origine naturelle ou non. Différents substrats sont aujourd'hui connus et utilisés car ils ont montré à plusieurs reprises leur meilleure performance par rapport à des substrats classiques (sable, gravier). Il y a par exemple les carbonates, un substrat alcalin qui fournit des anions et augmente le pH ce qui limite les phénomènes de désorption (Crafton et al., 2019). Il y a également la zéolithe, un minéral ayant une CEC très élevée, utile pour la rétention des cations et le biochar ayant une forte porosité et des sites d'adsorption élevés (Abedi et Mojiri, 2019). Du silicate-colloïde/humus en combinaison avec des plantes mycorhiziennes (Stachel et al., 2010) a aussi montré une amélioration de la rétention de substances organiques non polaires et enfin, du charbon actif et de la mousse de tourbe ont également été très performants pour éliminer les MPO dissous tels que les AP, PAE et BPA (Kalmykova et al., 2014). Un nouveau substrat adsorbant industriel mis sur le marché est le **Rainclean®**, un matériau constitué d'un mélange de grains de granulométrie différente, organiques et inorganiques. C'est un matériau riche en sites d'adsorption, en capacité de stockage d'eau et en carbonates, développé pour le traitement des eaux pluviales. Son efficacité épuratoire est étudiée depuis peu (Deshayes et al., 2017 ; Lundgren, 2021 ; Gulding, 2023), les auteurs ont révélé de bons taux de rétention en ETM, entre 95 et 99 % (Lundgren 2021) ou entre 50 et 88 % (Gulding 2023) et également en MPO, avec entre 70 et 92 % de rétention du BPA, 4-OP, 4-NP et DEHP (Deshayes et al., 2017). Les ETM sous forme dissoute n'étaient pas toujours fortement retenus, par exemple, le Cu dissous n'était retenu qu'à 45 % (Gulding, 2023). La rétention des ETM était meilleure si le temps de rétention hydraulique était augmenté.

Une dernière méthode d'amélioration du massif filtrant est la **bioaugmentation**, c'est à dire ajout de microorganismes connus pour avoir la capacité de dégrader les polluants organiques ciblés ou étant résistants à la pollution dans les substrats. Cette méthode est encore récente et en étude, elle peut avoir des impacts dans l'écosystème (compétition par exemple) ainsi elle n'est pas vraiment utilisée aujourd'hui dans les OGEP (Yu et al., 2022). L'apport de substrats organiques dans les ouvrages tels que ceux décrits juste avant (tourbe, litière, etc) permet également une stimulation des communautés microbiennes contrairement à du sable, substrat inerte (Afzal et al., 2011).

Ainsi, l'ajout de substrats plus performants ou la modification des substrats semble être une solution intéressante à mettre en place dans des FPR à écoulement vertical afin d'améliorer le traitement de la phase dissoute des polluants. Leurs performances et devenir dans le temps doivent encore être étudiés et validés in situ, notamment les nouveaux substrats développés. D'autres méthodes non liées au massif filtrant existent également (Dotro et al., 2017 ; Yu et al., 2022), mais ne seront que cités ici : la recirculation des eaux, l'aération forcée (via des pompes), la modification du temps de rétention, la sélection des macrophytes ou encore utilisation d'électrodes.

II-7. Législation sur les sols et déchets

II-7.1. Valeurs seuils d'intervention

Les matrices solides (substrats/sédiments) qui composent les FPR jouent donc un rôle dans la rétention des contaminants des eaux de ruissellement. La contrepartie est leur accumulation dans les ouvrages, essentiellement en surface. Pour savoir si les eaux de ruissellement polluent les substrats, il est nécessaire de comparer les teneurs avec des **valeurs de référence**. Selon, ces valeurs, il est alors possible de définir si oui ou non l'ouvrage est pollué et s'il présente donc un risque pour l'environnement et la santé humaine, notamment lorsque l'ouvrage est ouvert et accessible à la population.

En Union Européenne et donc en France, aucune loi ne protège aujourd'hui véritablement les sols en termes de pollution. Cependant, la Commission européenne a proposé en juillet 2023 une loi visant la protection des sols de l'Union Européenne (COM/2023/416, European Commission 2023). Cette loi

défini les principaux risques associés aux sols (érosion, salinisation, perte de biodiversité etc) notamment la pollution, mais ne fixe aucune norme de qualité comme c'est le cas pour les masses d'eau. Un cadre juridique existe concentrant « toute exploitation industrielle ou agricole susceptible de créer des risques de de provoquer des pollution ou nuisances, notamment pour la sécurité et la santé des riverains », il s'agit des Installation Classées pour la Protection de l'Environnement (ICPE, Article L511-1 du Code de l'Environnement, (*Légifrance 2021*). Selon le risque associé à l'exploitation, les activités sont soumises à un régime d'autorisation ou de déclaration. Cependant, les OGEP ne sont pas considérés comme des ICPE et n'ont donc pas d'obligation juridiques. Enfin, un seuil arrêté français donne des valeurs seuils pouvant être appliquées à des sols, en fixant des teneurs au-delà desquelles l'épandages de boues de station d'épuration doit être interdit (Arrêté du 08/01/98 fixant les prescriptions techniques applicables aux épandages de boues sur les sols agricoles, *Légifrance, 1998*). Ces valeurs ne concernent donc pas directement les sols, mais ce qu'ils peuvent recevoir.

Pour obtenir des valeurs de référence **dans** des sols, il est alors nécessaire de se tourner vers **d'autres pays**. La difficulté est que selon le pays, les valeurs seuils ne sont pas les mêmes. Les Tableau 1.17, 1.18 et 1.19 récapitulent les valeurs seuils d'intervention selon 4 pays pour les ETM et les MPO respectivement, pour des applications de sols pouvant entrer en contact avec l'Homme. Concernant les ETM, le Cd (le métal le plus toxique à faible dose) est le plus réglementé, avec des valeurs seuils comprises entre 0,8 et 40 mg/kg. Le seuil du Cr total est compris entre 80 et 520 (Cr III et Cr VI plus réglementés), celui du Cu entre 80 et 290 mg/kg, celui du Ni entre 40 et 300 mg/kg, celui du Pb entre 50 et 700 mg/kg et celui du Zn entre 250 et 720 mg/kg (Tableau 1.17). La Suède est le pays réglementant le plus les ETM dans les sols pouvant entrer en contact avec l'Homme et la Belgique celui qui a les valeurs réglementées les plus hautes. Aucun MPO émergent étudié dans cette thèse n'est à ce jour soumis à des seuils réglementaires sauf quelques PAE aux Pays-Bas dont les teneurs seuils sont comprises entre 17 et 82 mg.kg, le DMP étant le PAE le plus réglementé, suivi du DEHP (Tableau 1.18). Les HAP sont réglementés, soit selon chaque HAP individuellement (Belgique et Canada), soit selon la somme des HAP (de 10, Pays-Bas et Allemagne), soit selon leur poids moléculaire (Suède). Les HAP à haut poids moléculaire sont les plus réglementés en raison de leur impacts écotoxicologiques plus importants (seuil entre 1 et 25 mg/kg) (Tableau 1.19). Les seuils des autres HAP sont compris entre 5 et 126 mg/kg)

Ces valeurs seuils sont donc définies dans des sols au sens strict, les substrats filtrants ne sont donc pas vraiment similaires. Cependant, il s'agit des seules valeurs disponibles dans une matrice solide présente dans l'environnement et pouvant entrer en contact avec l'Homme, ce qui est le cas de la surface des ouvrages. Il est donc possible de **comparer** les valeurs retrouvées dans les Tableaux 1.15 et 1.16 à ces valeurs seuils. Concernant les **ETM**, les valeurs globales en surface relevées dans la littérature étaient comprises entre 0,91 et 1,1 mg/kg pour le Cd, entre 17 et 100 mg/kg pour le Cr, entre 13,7 et 124,4 mg/kg pour le Cu, entre 20,1 et 31,3 mg/kg pour le Ni, entre 10,1 et 260 mg/kg pour le Pb et entre 269,3 et 2270 mg/kg pour le Zn (Tableau 1.15). Les teneurs en Cd, Cr, Pb dépassent la valeur seuil de la Suède uniquement, les teneurs maximales en Cu dépassent les valeurs seuils du Canada et de la Suède, les teneurs en Ni ne dépassent aucun seuil et les teneurs maximales en Zn dépassent les valeurs seuils de tous les pays. Concernant les **MPO**, les valeurs globales d'HAP les plus retrouvés en surface étaient comprises entre 0,34 et 0,66 mg/kg pour le Phen, entre 0,61 et 1,3 mg/kg pour le Fluo, entre 0,52 et 0,79 mg/kg pour le Pyr, entre 0,3 et 0,54 mg/kg pour le Chry et entre 0,42 et 0,73 mg/kg pour le BbF (Tableau 1.16). Ainsi, tous les HAP ont des teneurs inférieures aux valeurs seuil de tous les pays. Le risque écotoxicologique est donc le plus présent pour les ETM dans des FPR pour le traitement des eaux de ruissellement.

Tableau 1.17 : Valeurs seuils d'intervention définies par différents pays pour les métaux (ETM) : Belgique, Pays-Bas, Canada et Suède.

| Pays | Document officiel | Seuil défini | Valeur (mg/kg sec) - ETM | | | | | | Référence |
|-----------------|---|--|--------------------------|----------------------------|--------|--------|--------|---------|----------------------------------|
| | | | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | |
| Belgique | Décret relatif à la gestion des sols du 05/12/2008 | Seuils d'intervention pour utilisation récréative ou commerciale (niveau IV) | 40 | Total : 520 Cr VI : 130 | 290 | 300 | 700 | 710 | Parlement Wallon (2008) |
| Pays-Bas | Circulaire sur l'assainissement des sols de 2009 | Seuil d'intervention pour atteinte grave aux propriétés fonctionnelles du sol pour l'homme, les plantes et les animaux | 13 | Cr III : 180 Cr VI : 78 | 190 | 100 | 530 | 720 | Meijer (2009) |
| Canada | Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés de 2005 | Seuil d'intervention pour les sites résidentiels, récréatifs et institutionnels (critère B) | 5 | 250 | 100 | 100 | 500 | 500 | Fouchécourt et al. (2005) |
| Suède | Valeurs indicatives génériques de l'Agence suédoise de protection de l'environnement pour le sol, 2009 (revisité en 2016) | Seuil pour l'utilisation sensible des terres (résidentiel, parcs etc.) | 0,8 | Total : 80 Cr VI : 2 | 80 | 40 | 50 | 250 | INSURE (2017) |
| - | - | - | 0,8-40 | 80-520 | 80-290 | 40-300 | 50-700 | 250-720 | Synthèse (min-max) |

Tableau 1.18 : Valeurs seuils d'intervention définies par les Pays-Bas pour les micropolluants organiques émergents (MPO) : phtalates uniquement.

| Pays | Document officiel | Seuil défini | Valeur (mg/kg sec) - MPO émergents | | | | | Référence |
|-----------------|--|--|------------------------------------|-----|------|-----|------|--------------|
| | | | DMP | DEP | DiBP | DBP | DEHP | |
| Pays-Bas | Circulaire sur l'assainissement des sols de 2009 | Seuil d'intervention pour atteinte grave aux propriétés fonctionnelles du sol pour l'homme, les plantes et les animaux | 82 | 53 | 17 | 36 | 60 | Meijer, 2009 |

Tableau 1.19 : Valeurs seuils d'intervention définies par différents pays pour les micropolluants organiques traditionnels (MPO), les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP). Belgique, Pays-Bas, Canada et Suède.

| Valeur (mg/kg sec) - MPO : HAP | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|---|--|-----|------|-------|-------|------|--------|--------|-------|-----|------|-----|--------|-------|------|------|-----|------------|----------------------|---------------|--------------|---------------------------|
| Pays | Document officiel | Seuil défini | Nap | Acyl | Acen | F | Phen | A | Fluo | Pyr | BaA | Chry | BbF | BkF | BaP | DahA | BPer | IP | ∑ 10 HAP * | HAP-F (faible poids) | HAP-M (moyen) | HAP-H (haut) | Référence |
| Belgique | Décret relatif à la gestion des sols du 05/12/2008 | Seuils d'intervention pour utilisation récréative ou commerciale (niveau IV) | 9 | 78 | 19 | 46 | 60 | 3,7 | 126 | 18 | 5 | 25 | 4 | 15,5 | 4,5 | 5 | 15 | 6 | | | | | Parlement Wallon (2008) |
| Pays-Bas | Circulaire sur l'assainissement des sols de 2009 | Seuil d'intervention pour atteinte grave aux propriétés fonctionnelles du sol pour l'homme, les plantes et les animaux | | | | | | | | | | | | | | | | | 40 | | | | Meijer (2009) |
| Canada | Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés de 2005 | Seuil d'intervention pour les sites résidentiels, récréatifs et institutionnels (critère B) | 5 | | 10 | 10 | 5 | 10 | 10 | 10 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | | | | | Fouchécourt et al. (2005) |
| Suède | Valeurs indicatives génériques de l'Agence suédoise de protection de l'environnement pour le sol, 2009 (revisité en 2016) | Seuil pour l'utilisation sensible des terres (résidentiel, parcs etc.) | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3 | 3,5 | 1 | INSURE (2017) |
| - | - | - | 5-9 | 78 | 10-19 | 10-46 | 5-60 | 3,7-10 | 10-126 | 10-18 | 1-5 | 1-25 | 1-4 | 1-15,5 | 1-4,5 | 1-5 | 1-15 | 1-6 | 40 | 3 | 3,5 | 1 | Synthèse (min-max) |

* Pour : Naphtalène, Phénanthrène, Anthracène, Fluoranthène, Chrysène, Benzo(a)anthracène, Benzo(a)pyrène, Benzo(k)fluoranthène, Indeno(1,2,3cd)pyrène, Benzo(ghi)pérylène

II-7.2. Gestion des déchets

Si le sol/substrat étudié présente bien une pollution avérée, il faut alors gérer cette matrice considérée comme un déchet. La législation française définit alors la gestion de ces déchets (Légifrance, 2022). Tout d'abord, la norme **NF X 31-620-2** permet de savoir si le site est pollué après une étude. Si cette pollution est avérée, le « **Guide de valorisation hors site des terres excavées issues de sites et sols potentiellement pollués dans des projets d'aménagement** » mis en place par le BRGM, l'INERIS et le Ministère de la Transition Energétique et Solidaire est alors utilisé (Coussy et al., 2020). Ce guide expose les modalités selon lesquelles les terres excavées issues de sites et sols potentiellement pollués peuvent être valorisées hors site dans le cadre de projets d'aménagement. Cependant, les sédiments extraits des dispositifs de traitement des eaux pluviales ne sont pas inclus dans ce guide de valorisation. Plus de réglementation est nécessaire pour la gestion des déchets solide issus des eaux de ruissellement, qui ne sont à ce jour pas assez pris en compte. Si le lecteur est intéressé, une synthèse de ce guide est fournie en Annexe 1-6.

La végétation peut également être faucardée et exportée hors des FPR. La partie III-1 mettra en évidence si des contaminants sont présents dans leurs tissus, et s'ils peuvent être valorisés selon de normes.

II-8. Conclusion sur les filtres plantés de roseaux pour le traitement des eaux de ruissellement urbain

Cette seconde partie de l'état de l'art a permis de discuter des différents OGEP existants, avec une attention particulière sur les FPR et leur fonctionnement. L'efficacité épuratoire puis le devenir des micropolluants organiques et métalliques des FPR ont également été discutés, avec les facteurs pouvant contribuer à une amélioration ou à une dégradation de leurs performances. Enfin, des valeurs seuils d'intervention issues d'autres pays ont été synthétisées afin de mieux appréhender la gestion de ce type d'ouvrage.

Les FPR à écoulement vertical sont une technique relativement nouvelle pour le traitement des eaux de ruissellement ; il s'agit d'une excavation remplie de couches superposées de matériaux filtrants dont la granulométrie augmente avec la profondeur sur lesquels des macrophytes sont plantés en surface et des communautés microbiennes autochtones des substrats se développent, permettant des interactions entre l'eau (et les polluants contenus), les substrats, les microorganismes associés et la végétation. Ces OGEP présentent de **bonnes efficacités épuratoires** dans l'ensemble (efficacités entre 22 et 99 % pour les ETM, la majorité étant supérieure à 50 % ; efficacités entre 44 et 98 % pour les HAP ; aucune mesure des MPO émergents). De façon générale, le traitement des micropolluants présents sous forme **particulaire** était **meilleur** que celui sous forme dissoute (LeFevre et al., 2014 ; Flanagan et al., 2018). Cela s'explique par les processus dominants dans de tels ouvrages : la **sédimentation** et la **filtration** (qui permettent la rétention des polluants particulaires), même si **l'adsorption** (qui permet la rétention des polluants dissous) peut également contribuer (LeFevre et al., 2014 ; Tedoldi et al., 2016). La **nature du substrat** (CEC, teneurs en matières organiques, granulométrie, pH) au sein d'un FPR est importante puisqu'elle détermine l'intensité des différents processus. Des nouveaux types de **substrats** émergent aujourd'hui pour favoriser la rétention des polluants et donc améliorer les efficacités épuratoires.

Une fois retenus, les **ETM s'accumulent** du fait de leur caractère conservatif ; les études ont montré leur accumulation préférentiellement en **surface** et près de la **zone d'arrivée d'eau** en raison de leur nature essentiellement particulaire mais également par l'adsorption des polluants dès l'entrée dans le FPR (Dechesne et al., 2004 ; Tedoldi et al., 2017 ; Schmitt et al., 2015 ; Walaszek et al., 2018 ; Al-Ameri et al., 2018 ; Flanagan et al., 2019b). Les **HAP** sont les MPO les plus étudiés. Ils tendent également à s'accumuler dans les mêmes zones que les ETM (Napier et al., 2009 ; Bu et al., 2009 ; Istenič et al., 2011 ; Schmitt et al., 2015 ; Tedoldi et al., 2017 ; Walaszek et al., 2018), mais leur nature organique conduit à leur **dégradation** (biotique ou abiotique) avec le temps. Cependant, les MPO émergents (AP, BPA, PAE) sont à ce jour trop peu étudiés dans les FPR pour tirer des conclusions. Les

MES contenues dans les eaux et retenues en surface par filtration forme une couche de sédiment en surface des FPR et correspond à la zone la plus contaminée.

Le **vivant**, au travers de la végétation et des microorganismes autochtones, est un compartiment important dans les FPR. En effet, la **biodégradation** des MPO par les microorganismes des sols/substrats/sédiments est un processus important d'élimination dans les OGEP (*LeFevre et al., 2011 ; Leroy et al., 2015*) puisqu'elle permet une réelle diminution de leur teneur. La végétation implantée dans les FPR joue également des rôles sur leur fonctionnement, directement ou indirectement. Pourtant, l'étude du rôle du vivant en contexte de FPR ou même d'OGEP est encore faible. Afin de mieux comprendre le devenir des MPO et particulièrement des émergents, il est donc nécessaire d'étudier d'une part la **végétation** et d'autre part les **communautés microbiennes** présentes dans les OGEP ainsi que leurs rôles. Le prochain et dernier chapitre traitera ce sujet.

III - Rôles de l'activité biologique des filtres plantés de roseaux

III-1. Rôles de la végétation dans les filtres plantés de roseaux

La végétation (*P. australis*) joue un véritable rôle dans l'efficacité de l'OGEP. Différentes fonctions au sein d'un FPR lui sont attribuables ; certaines sont en relation directe avec le traitement de l'eau et d'autres non. En général, au fur et à mesure que le système évolue, leurs effets sont de plus en plus importants (*Batty, 2003*). Cette partie présentera plus en détails certaines fonctions propres aux FPR à écoulement vertical objet de notre étude.

Les roseaux jouent trois rôles majeurs, qui sont (1) rôle sur l'**hydrologie** du système (effet hydraulique) ; (2) rôle de **support et stimulation des communautés microbiennes** sur la couche supérieure du filtre (effet rhizosphérique) et (3) rôle d'**accumulation de contaminants** (effet biochimique).

III-1.1. Rôle hydrologique

Le rôle le plus important des roseaux concernant l'hydraulique du FPR est mécanique. Le mouvement des roseaux lié au vent induit la création d'interstices entre les tiges et la couche de dépôt, ce qui permet d'une part de **limiter le colmatage** du FPR en perçant la couche de dépôt et d'autre part de **favoriser l'infiltration** de l'eau dans ces zones (*Molle et al., 2006 ; AFNOR 2011*). Cela permet donc la percolation de l'eau dans le FPR, malgré l'accumulation de sédiments en surface et donc de garder un système ouvert (transfert d'eau et de gaz). Ce phénomène est limité en période hivernale (repos des roseaux). Le développement du système racinaire et la croissance des tiges permettent d'**accentuer** cet effet de percolation car ils maintiennent la perméabilité du sol, limitent le colmatage du FPR (nouvelles tiges, racines et rhizomes) et constituent des chemins préférentiels pour l'eau (grâce à la formation de macropores notamment) (*Lee et Scholz, 2007 ; Brix, 1997 ; AFNOR, 2011 ; EPNAC, 2014*). Également, lors de la mort des parties souterraines, les pores et canaux liés à leur développement peuvent résister et ainsi devenir des chemins d'écoulement préférentiels (macropores tubulaires secondaires) (*Batty, 2003 ; Stottmeister et al., 2003 ; Brix, 1994*). En revanche, le développement des roseaux ne permet pas d'améliorer la perméabilité initiale du FPR, ils la maintiennent seulement (*Molle et al., 2006 ; Batty, 2003*). Ce rôle mécanique est surtout présent dans les couches de surface du FPR (jusqu'à 20-30 cm) (*Stottmeister et al., 2003*).

La présence de végétation au sein de FPR permet d'assurer une stabilité des substrats par le développement des racines et rhizomes et ainsi de **limiter son érosion** dans le temps (*Brix, 1997*). Les roseaux permettent également de **limiter les vitesses d'écoulement** d'eau à la surface du FPR.

La transpiration des plantes joue un rôle sur l'hydraulique du FPR. En général, c'est l'évapotranspiration qui est mesurée ; il s'agit de la somme de l'évaporation de l'eau par le sol et de la transpiration des plantes. L'évapotranspiration est un phénomène saisonnier lié au développement des roseaux. Celui-ci va permettre de diminuer les volumes d'eau sortants du FPR (donc rejetés ensuite) et ainsi participer à

la **régulation des débits**, surtout en été (EPNAC, 2014 ; Stottmeister et al., 2003 ; AFNOR, 2011). La fraction d'eau évaporée reste tout de même inférieure à celle infiltrée (EPNAC 2014) (quelques mm/j). Si les rejets d'eau sont ainsi plus faibles, le risque de concentrer certains éléments est plus important (eau saline par exemple) (Stottmeister et al., 2003).

III-1.2. Rôle de support des communautés microbiennes

Un des effets positifs de la végétation est de stimuler au travers de sa rhizosphère les communautés microbiennes favorisant alors la biodégradation de polluants organiques et le fonctionnement des cycles biogéochimiques. Le principal lieu de ces interactions est la rhizosphère.

La **rhizosphère** (la sphère d'influence des racines) est une zone biologiquement très active en raison d'une forte présence de nutriments et de carbone facilement disponibles qui sont fournis par les racines (exudats racinaires) (Oberai et Khanna, 2018) et implique donc une **augmentation** de l'activité et de la biomasse microbienne à l'interface racine-sol par rapport au sol autour (Anderson et al., 1993 ; Gupta et al., 2020 ; Coleman, 2008). On parle alors de l'**effet rhizosphérique**. En retour, les microorganismes présents permettent la croissance des plantes de façon directe et indirecte car ils fournissent aux plantes des nutriments et dégradent les contaminant présents (donc limitent leur toxicité) notamment (Gupta et al., 2020 ; Oberai et Khanna, 2018). On appelle ces microorganismes dans la région rhizosphérique et endophytique (c'est-à-dire au sein d'un végétal) les « Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB, bactéries promotrices de croissance des plantes) (Singh et al., 2020).

Les nutriments et carbone fournis par le système racinaire de la végétation sont principalement issus de l'exsudation et de dépôts racinaires. Les **exsudats** sont très importants dans le développement élevé des microorganismes dans cette zone car ils sont utilisés comme source de carbone. Ils sont composés de sucres, d'acides aminés, de glycosides, de vitamines, d'acides organiques ou encore d'enzymes (Vančura et Hovadik, 1965 ; Curl et Truelove, 1986). La quantité et le type d'exsudats varient selon les espèces végétales, leur âge et de leur état nutritionnel (He et al., 2005). De plus, la sécrétion de mucilage et la décomposition des racines permettent de libérer les nutriments et de la matière organique dans cette zone (Gupta et al., 2020). A l'inverse, des microorganismes sont capables d'induire la libération de certains nutriments par les plantes au travers de signaux biogéochimiques (Anderson et al., 1993). Enfin, les exsudats racinaires peuvent être utilisés par les microorganismes comme source de carbone et d'énergie pour stimuler la biodégradation (cométabolisme) (Imfeld et al., 2009).

Les racines vont également **modifier les paramètres physico-chimiques du sol**, tels que le pH, le potentiel d'oxydo-réduction Eh, les pressions partielles d'oxygène et de dioxyde de carbone ainsi que l'humidité du sol (Hinsinger et al., 2003 ; Anderson et al., 1993). Tous ces paramètres modifiés sont caractérisés par des gradients se produisant dans l'axe radial et longitudinal le long des racines des végétaux, avec des variations spatio-temporelles (Imfeld et al., 2009) qui modifient l'environnement, impliquant alors également des changements dans les communautés microbiennes (Anderson et al., 1993). On parle alors de microclimats.

Ces microorganismes présents dans la rhizosphère peuvent être impliqués dans la dégradation de polluants dans le sol. Ainsi, l'augmentation des populations microbiennes et de leur activité dans la rhizosphère permet d'améliorer la biodégradation des polluants organiques (Anderson et al., 1993 ; Wang et al., 2022). Cette dégradation améliorée par la rhizosphère est connue des procédés de traitement et est appelée **rhizoremédiation**. Il s'agit d'une méthode faisant partie des procédés de phytoremédiation, utilisant des plantes pour décontaminer un sol à l'aide des microorganismes qui sont associées à leur rhizosphère (Gupta et al., 2020). Elle est utilisée aujourd'hui pour améliorer la dégradation de contaminants dans les sols (Oberai et Khanna, 2018), comme les HAP, les insecticides, les PAE, les phénols etc (Toyama et al., 2009 ; Toyama et al., 2011 ; He et al., 2005 ; Leroy et al., 2015 ; LeFevre et al., 2011 ; Brown et al., 2009 ; Tong et al., 2021 ; Shrestha et al., 2021).

La capacité à dégrader des polluants organiques des communautés microbiennes rhizosphériques vont dépendre : du type de racine (particulièrement la structure des racines, car elle joue sur la surface de colonisation), de l'espèce végétale, de son âge et de sa santé, du type de sol et l'historique d'exposition

des racines et du sol aux polluants (Anderson et al., 1993 ; Berg et Smalla, 2009). Ces communautés ainsi que leur rôle dans les FPR seront détaillées dans la partie III-2.

III-1.3. Rôle d'élimination des polluants

La photosynthèse permet aux végétaux d'assimiler du C, O et H, cependant, afin de pleinement se développer et se reproduire, les végétaux assimilent également des éléments nutritifs, principalement par leurs racines. La transpiration des feuilles induit un flux de solution des racines jusqu'aux feuilles (en passant par les tiges), qui correspond à la solution du sol, riche en nutriments. Selon les quantités nécessaires, deux types de nutriments existent : les macronutriments (K, N, P, Ca, Mg...) et les micronutriments (Zn, Cu, Mn, Ni, Cl...). Au cours du transport de la solution dans les différents tissus par le xylème, les nutriments sont assimilés et sont ainsi stockés dans le végétal. Cependant, des éléments non essentiels (Cd, Hg, Pb ...) sont également absorbés par la plante au cours de ce processus. Cela conduit ainsi à une absorption et donc accumulation de composés dont des ETM et MPO dans les différentes parties du végétal (Dettenmaier et al., 2009 ; Sheoran et al., 2016). L'absorption des polluants organiques et métalliques par les végétaux sera uniquement discutée dans ce paragraphe, car les macronutriments sont moins présents dans les eaux de ruissellement de voirie.

Plusieurs indicateurs sont utilisés pour **quantifier l'accumulation** dans les végétaux et donc l'absorption des polluants. Il y a tout d'abord la **teneur** d'un polluant dans les différentes parties du végétal (parties souterraines, racines et rhizomes et parties aériennes, feuilles et tiges) en mg/kg ou µg/kg. Vymazal (2016) a démontré qu'utiliser les teneurs en polluants n'était pas pertinent pour comparer leur accumulation dans les différentes parties d'un végétal. La considération de la biomasse est importante, les parties souterraines sont généralement plus contaminées que les parties aériennes, mais ces dernières ont une biomasse plus importante. Ainsi, en rapportant les teneurs à la biomasse par m², il avait démontré que la partie aérienne accumulait plus de métaux que la partie souterraine. Il a alors préconisé d'exprimer les résultats d'accumulation en **quantité de polluant par mètre carré (mg/m²)** en multipliant les teneurs dans les différentes parties du végétal par la biomasse des différentes parties dans un mètre carré. Cependant, un grand nombre d'étude ne respectant pas ces recommandations, la suite de cette section discutera des valeurs en termes de teneurs (mg/kg ou µg/kg) uniquement. Deux facteurs sont également utilisés, le **facteur de bioconcentration FBC** (rapport entre la teneur mesurée dans les parties souterraines et dans le sol/sédiment/substrat) qui permet d'évaluer le transfert du sol vers les parties souterraines du végétal (racines et rhizomes). Le second est le **facteur de translocation FT** (rapport entre la teneur mesurée dans les parties aériennes et dans les parties souterraines) permettant d'évaluer le transfert des polluants des parties souterraines vers les parties aériennes (tiges et feuilles).

Les teneurs en polluants absorbées dans le végétal permettent d'évaluer sa capacité à les accumuler. D'après Krämer (2010), une espèce est dite hyperaccumulatrice si les teneurs dans les tissus dépassent un certain seuil défini (Tableau 1.20) : plus de 100 mg/kg de Cd, plus de 300 mg/kg de Cu, plus de 1000 mg/kg de Pb, plus de 1000 mg/kg de Ni et plus de 3000 mg/kg de Zn.

Tableau 1.20 : Seuils (mg/kg) utilisées pour considérer ou non une plante comme hyperaccumulatrice (d'après Krämer (2010)).

| Métal | Critère de teneurs d'hyperaccumulation (mg/kg) |
|-------|--|
| Cd | > 100 |
| Cu | > 300 |
| Pb | > 1 000 |
| Ni | > 1 000 |
| Zn | > 3 000 |

Une étude bibliographique de l'absorption d'ETM et de MPO a été réalisée afin d'évaluer le rôle des *P. australis*. Les résultats sont présentés dans les Tableaux 1.21 et 1.22. Concernant les **ETM** (Tableau 1.21), les différentes études citées ont montré que les roseaux communs sont des espèces

considérées comme **tolérantes et accumulatrices**. En effet, les teneurs dans les tissus de la plante et dans le sol/sédiment autour sont souvent corrélées (Rahimi et al., 2019 ; Nawrot et al., 2021a ; Nawrot et al., 2021b ; Wdowczyk et Szymańska-Pulikowska 2023) mais les facteurs de bioconcentration dépassaient rarement 3 (le plus fort FBC mesuré est de 2.67, pour le Ni dans l'étude de Salem et al. (2014)). Dans le cas de *P. australis*, aucune étude n'a montré des teneurs supérieures aux seuils d'hyperaccumulation. Dans les parties souterraines, les teneurs *in situ* variaient entre 0,5 et 4,3 mg/kg (ppm) pour le Cd, entre 1,45 et 138,6 ppm pour le Cu, entre 4,43 et 109,8 ppm pour le Pb et entre 9,44 et 691 ppm pour le Zn. Dans les parties aériennes, les teneurs variaient entre 0,055 et 4,6 ppm pour le Cd, entre 1,11 et 21,5 ppm pour le Cu, entre 0,039 et 32,2 ppm pour le Pb, et entre 9,6 et 473 ppm pour le Zn (Salem et al., 2014 ; Schmitt et al., 2015 ; Klink et al., 2019 ; Rahimi et al., 2019 ; Al-Homaidan et al., 2020 ; Nawrot, et al., 2021a).

Ces valeurs révèlent que l'accumulation d'ETM dans *P. australis* se fait essentiellement dans les parties souterraines (racines/rhizomes) avec des teneurs généralement bien plus importantes que dans les rhizomes et parties aériennes (Rahimi et al., 2019 ; Nawrot et al., 2021a ; Nawrot et al., 2021b ; Wdowczyk et Szymańska-Pulikowska, 2023; Salem et al., 2014). Cette accumulation permet de protéger les parties aériennes (notamment les parties réalisant la photosynthèse) d'effets phytotoxiques de certains ETM trop concentrés (Cr, Cu, Cd, Zn...). Cependant, à la fin de la saison de croissance, une translocation des ETM lourds vers les parties aériennes de la plante (dans les tissus sénescents) permet une voie possible d'élimination de ces ETM par les *P. australis* (Salem et al., 2014 ; Duman et al., 2007). De façon générale, les teneurs accumulées sont différentes selon les parties de la plante avec **racines > rhizomes >> feuilles > tige**.

Dans une ZHA traitant des eaux de lixiviat de décharge, Salem et al. (2014) ont révélé une accumulation d'ETM plus importante dans les tissus de *P. australis* en amont, lieu d'alimentation du FPR en eau. Les différences étaient moins nettes dans un FPR-V traitant des eaux de ruissellement, mais le Cu, Pb et Zn étaient plus concentrés en amont (Schmitt et al. 2015). Dans les FPR traitant les eaux de ruissellement, une différence entre l'amont et l'aval serait alors attendue.

L'impact de la **hauteur d'eau** au-dessus de la surface du sol sur l'absorption de métaux par les *P. australis* a également été étudié par Ding et Sun (2021). Ils ont montré qu'une inondation plus grande favorisait l'absorption des ETM (Fe, Cu, Zn, Cd, Pb). L'impact de la **saison** a également été étudié (Salem et al., 2014 ; Duman et al., 2007 ; Kastratović et al., 2013). D'après Salem et al. (2014) (qui ont étudié l'accumulation dans les plantes pendant 2 ans, en automne et au printemps uniquement), les teneurs sont généralement plus importantes au printemps, lors de la croissance de la plante. Lorsqu'un suivi plus récurrent était réalisé (Duman et al., 2007, suivi sur une année entière de l'accumulation, au printemps, été, automne et hiver), les facteurs d'accumulation dans les racines étaient plus importants en hiver par rapport aux autres saisons, avec une baisse de teneur du printemps à l'été. Ils ont ainsi montré que les taux d'accumulation diminuaient pendant la période de croissance et augmentaient en automne/hiver. Kastratović et al. (2013) ont également observé les mêmes résultats. Ainsi, il est important de réaliser un suivi dans le temps pour tirer des conclusions, car selon les dates d'échantillonnage, des résultats très différents peuvent être observés. Ils préconisent finalement, de **récolter les parties aériennes à la fin du cycle végétatif** afin d'avoir une extraction maximale des ETM accumulés.

L'accumulation de **MPO** (Tableau 1.22) a moins été étudiée dans les plantes de façon générale, et également dans les *P. australis*. Les rares études qui ont été trouvées portaient principalement sur l'accumulation d'HAP et pesticides organophosphorés. Aucune étude sur l'accumulation d'AP, de BPA et phtalates n'a été trouvée pour *P. australis*. Le facteur déterminant d'absorption par la plante de composés organiques est la nature lipophile du composé, traduit par le coefficient de partage octanol-eau **Kow**. Les composés hydrophobes (log Kow > 5) sont supposés être très faiblement absorbés vers les plantes car piégés dans l'épiderme des racines (Imfeld et al., 2009). Aussi, ils sont fortement liés aux matières particulaires du sol et aux racines, et donc moins biodisponibles pour l'absorption par les plantes (Sushkova et al., 2021). Les log Kow du BPA et 4-NP étant entre 3.4 et 5,4 (cf. I-7.2), une faible migration dans les plantes est attendue, avec plutôt une tendance à l'accumulation dans les racines en raison de leurs teneurs élevées en matières grasses (Wang et al., 2018).

Tableau 1.21 : Teneurs (teneur moyenne ou min-max observés) en ETM et facteurs associés (FBC : Facteur de bioconcentration ; FT : Facteur de translocation) dans les tissus de *Phragmites australis* (P.au) retrouvées dans la littérature sous différents contextes : Zone humide artificielle (ZHA), sol contaminé, sédiment contaminé, OGEP, traitant des eaux de lixiviat de décharge, de ruissellement, ou juste anciennement contaminées. Les teneurs sont ici en mg/kg. (Salem et al. 2014 ; Schmitt et al. 2015 ; Klink et al., 2019 ; Rahimi et al. 2019 ; Al-Homaidan et al. 2020 ; Nawrot et al. 2021a ; Nawrot et al. 2021b ; Jeelani et al. 2020).

| Contexte | Partie analysée | Teneur dans le sol/sédiment (mg/kg) (min-max) | | | | | | Teneur dans P.au selon les différentes parties (mg/kg) (min-max) | | | | | | FBC pour les parties souterraines, FT pour les parties aériennes (min-max) | | | | | | Référence | | | |
|--|-------------------|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|--|------------|-----------|-----------|-----------|------------|--|-----------|-----------|-----------|----|-----------|-----------|----------------------|--|--|
| | | Cd | Cu | Cr | Pb | Ni | Zn | Cd | Cu | Cr | Pb | Ni | Zn | Cd | Cu | Cr | Pb | Ni | Zn | | | | |
| ZHA traitant lixiviats de décharge. P.au et sédiments prélevés en amont (Am) et aval (Av) (France) | Racines Am | | | | | | | <0,5-1 | 16,0-40,90 | 6,20-158 | | 10,2-127 | | 143-171 | 0,40-1,06 | 0,18-0,46 | 0,11-2,1 | - | 0,24-2,67 | 0,37-0,64 | Salem et al., 2014 | | |
| | Racines Av | | | | | | | <0,5-0,65 | 10,9-38,2 | 4,20-17,8 | | 9-30,0 | | 17,46-52,4 | | | | | | | | | |
| | Rhizome Am | Am : | Am : | Am : | | Am : | Am : | <0,5 | 1,45-2,70 | <1-4,92 | | <1-4,14 | | 9,44-23,08 | - | 0,01-0,02 | 0,02-0,07 | - | 0,03-0,09 | 0,04-0,08 | | | |
| | Rhizome Av | Av : | Av : | Av : | - | Av : | Av : | <0,5 | <1-1,21 | <1-2,17 | - | <1-2,21 | | <1-17,2 | | | | | | | | | |
| | Tiges Am | 0,50-1,15 | 57,7-131 | 39,8-58,9 | | 34,3-40,1 | 116-227 | <0,5 | <1-6,83 | <1-1,95 | | <1-5,49 | | 15,20-86,46 | | | | | | | | | |
| | Tiges Av | | | | | | | <0,5 | <1-3,10 | <1-1,86 | | <1-5,23 | | <1-36,3 | | 0,07-0,29 | 0,02-0,05 | - | 0,02-0,06 | 0,12-0,37 | | | |
| | Feuilles Am | | | | | | | <0,5 | 4,52-7,19 | <1-3,78 | | <1-2,78 | | 18,85-31,6 | | | | | | | | | |
| Feuilles Av | | | | | | | <0,5 | 2,84-6,91 | <1-1,08 | | <1-1,23 | | 14,7-22,98 | | | | | | | | | | |
| ZHA traitant eaux pluviales. P.au aérien et sédiment prélevés en amont et aval (France) | Aérien Am | - | 10,7 | 21,4 | 9,7 | 13,2 | 86,1 | - | 1,9 | 6,1 | 1,8 | 2,6 | 20,98 | | | | | | | | Schmitt et al., 2015 | | |
| | Aérien Av | - | 8,8 | 20,2 | < LQ | 12,9 | 22,1 | - | 1,1 | 7,6 | 0,45 | 3,3 | 10 | | | | | | | | | | |
| Sites contaminés (B) ou non (A). Feuilles de P.au et sédiment prélevés (Pologne) | Feuilles-Groupe A | - | 11,3-53,9 | - | 16,1-135 | 12,8-40,9 | - | - | 5,32-7,49 | - | 0,64-2,27 | 0,44-1,62 | - | | | | | | | | Klink et al., 2019 | | |
| | Feuilles-Groupe B | - | 2,3-7,5 | - | 1,6-10,4 | 0,6-8,9 | - | - | 2,75-8,89 | - | 0,37-3,31 | 0,47-1,45 | - | | | | | | | | | | |
| Rivière en ville : P.au et sédiment prélevés le long (Iran) | Racines | | | | | | | - | 10,7-73,5 | - | 8,9-15,2 | - | 18,2-39,2 | - | 0,355 | - | 0,764 | - | 0,527 | | Rahimi et al., 2019 | | |
| | Tiges | - | 31,6-72,8 | - | 16,7-26,8 | - | 36,4-64,2 | - | 5,3-9,2 | - | 6,9-7,8 | - | 9,6-11 | - | | | | | | | | | |
| | Feuilles | - | | | | | | - | 8,7-21,2 | - | 5,8-9,1 | - | 13,3-19,55 | - | 1,55 | - | 1,067 | - | 0,819 | | | | |

Tableau 1.21 (suite)

| Contexte | Partie analysée | Teneur dans le sol/sédiment (mg/kg) (min-max) | | | | | | Teneur dans P.au selon les différentes parties (mg/kg) (min-max) | | | | | | FBC pour les parties souterraines, FT pour les parties aériennes (min-max) | | | | | | Référence |
|--|----------------------------------|---|----------|-----------|----------|----------|----------|--|------------|--------------------------|-------------|-----------|-------------|--|-----------|-----------|-------------|-----------|-----------|-----------|
| | | Cd | Cu | Cr | Pb | Ni | Zn | Cd | Cu | Cr | Pb | Ni | Zn | Cd | Cu | Cr | Pb | Ni | Zn | |
| 6 zones humides naturelles autour de sites pollués. P.au et sédiment prélevés (Arabie Saoudite) | Racines | 1,8-3,5 | 12,4-130 | - | 25-100,5 | 59,9-105 | 49,3-664 | 1,8-4,3 | 12,3-138,6 | - | 18,7-109,8 | 23,5-63,1 | 175-557,8 | 1,2 | 0,95 | - | 0,98 | 0,51 | 0,89 | |
| | Rhizomes | | | | | | | 0,5-3,8 | 7,1-24,8 | | 14,2-32,1 | 1,8-31,4 | 67,6-264,3 | 0,9 | 0,19 | - | 0,33 | 0,15 | 0,45 | |
| | Tiges | | | | | | | 0,5-4,6 | 7,2-21,5 | | 13,8-29,4 | 2,5-24,9 | 45,6-387,8 | 0,73 | 0,2 | - | 0,36 | 0,23 | 0,58 | |
| | Feuilles | | | | | | | 0,3-3,8 | 10,9-17,4 | | 17,4-32,2 | 2,9-28,3 | 60,5-268,5 | 0,61 | 0,22 | - | 0,39 | 0,29 | 0,48 | |
| Fossé en bord de route. P.au et sédiment prélevés (Pologne) | Racines | 0,654 | 87,9 | 54,2 | 84,5 | 25,4 | 642 | 0,833 | 66,2 | 6,84 | 4,43 | 12,4 | 691 | 1,27 | 0,75 | 0,13 | 0,05 | 0,13 | 1,08 | |
| | Tiges | | | | | | | 0,055 | 14,4 | 0,901 | 0,109 | 0,594 | 473 | 0,03 | 0,17 | 0,13 | 0,01 | 0,09 | 0,49 | |
| | Feuilles | | | | | | | 0,021 | 11,3 | 0,868 | 0,039 | 1,06 | 340 | 0,38 | 0,78 | 0,96 | 0,36 | 1,78 | 0,72 | |
| Mésocosmes au laboratoire : sédiment de bassins de rétention d'eaux pluviales. P.au et sédiments prélevés après 6 mois (Pologne) | Racines | 0,301-0,552 | 24-128 | 25-60 | 98-667 | 6,9-23,4 | 189-803 | 0,19-0,25 | 11,6-15,4 | 5,12-9,87 | 15,40-38,20 | 3,54-6,99 | 89,9-155 | 0,62-1,25 | 0,20-1,19 | 0,07-0,46 | 0,01-0,06 | 0,27-1,12 | 0,31-0,99 | |
| | Tiges | | | | | | | 0,02-0,03 | 0,70-6,01 | 0,31-0,64 | 0,17-0,31 | 0,11-0,24 | 15,20-62,40 | - | - | - | - | - | - | |
| | Feuilles | | | | | | | 0,02-0,04 | 1,87-10,10 | 0,20-0,51 | 0,21-0,31 | 0,24-0,41 | 15,5-111 | - | - | - | - | - | - | |
| Mésocosmes au laboratoire : sol agricole non contaminé, enrichi en Cd (20-40 ppm) et pyrène (0-50-100 ppm). P.au et sédiments prélevés après 75 j (Chine) | Souterrain | 20 ou 40 | - | - | - | - | - | 20 : 419-144 | - | 40 : 1184-2836 | - | - | - | 0,08-0,32 | - | - | - | - | - | |
| | Aérien | | | | | | | 20 : 313-582 | - | 40 : 331-1288 | - | - | 0,15-0,77 | - | - | - | - | | | |
| - | Souterrain (racines et rhizomes) | 0,50-3,5 | 2,3-219 | 20,2-75,3 | 1,6-135 | 0,6-105 | 22,1-664 | 0,5-4,3 | 1,45-138,6 | 4,20-158 | 4,43-109,8 | 1,8-127 | 9,44-691 | 0,40-1,27 | 0,01-0,95 | 0,02-2,1 | 0,050-0,98 | 0,03-2,67 | 0,04-1,08 | |
| | Aérien (tiges et feuilles) | | | | | | | 0,055-4,6 | 1,11-21,5 | 0,871-7,6 | 0,039-32,2 | 0,44-28,3 | 9,6-473 | 0,030-0,73 | 0,07-1,55 | 0,2-0,96 | 0,010-1,067 | 0,02-1,78 | 0,12-0,82 | |

Le Tableau 1.22 révèle que les *P. australis* sont capables d'accumuler des composés organiques à plus ou moins forte intensité selon leur hydrophobicité. Tout d'abord, concernant les HAP, les auteurs ne les ont pas étudiés de la même façon ; selon leur poids moléculaire, leur nombre de cycle ou en sommant les 16 HAP prioritaires. En considérant les résultats de la somme des 16 HAP, les teneurs dans les parties souterraines variaient entre 286 et 7313 µg/kg (ppb) et celles dans les parties aériennes variaient entre 175,7 et 7814 ppb (Cui et al., 2015 ; Sushkova et al., 2021 ; Minkina et al., 2022 ; Jeelani et al., 2020). Jeelani et al. (2020) ont montré très peu d'accumulation du pyrène dans les racines et encore moins dans les parties aériennes, lorsque du Cd et du pyrène étaient amenés dans un sol pendant 75 jours (FBC et FT <1). En revanche, Cui et al. (2015) ont de leur côté montré des accumulations plus élevées d'HAP dans les parties souterraines et aériennes de *P. australis* après 3 ans d'expérience d'alimentation en eau contaminée. En comparaison, le BCF du pyrène était de 3, dans les racines, soit 5,7 à 11 fois plus que dans l'étude précédente. Le temps d'expérimentation a certainement joué un rôle sur les résultats. Les études ayant calculé un FBC ont donc montré une capacité d'absorption des composés organiques plus importante que les métaux. Elles ont également révélé que les HAP à 3 cycles dominaient dans les parties aériennes et souterraines de *P. australis* (Sushkova et al., 2021 ; Minkina et al., 2022). Ces auteurs ont conclu qu'avec l'augmentation du nombre de cycle benzéniques (et donc du poids moléculaire), la translocation était ralentie indiquant alors une sorte de barrière à la frontière racine-tige pour les composés à haut poids moléculaire. Le phénanthrène était le HAP le plus accumulé dans les *P. australis* et le plus transloqué également (Cui et al., 2015 ; Sushkova et al., 2021) avec un FBC de 12 dans les racines lorsque le facteur était calculé. Ainsi, les HAP à faible et moyen poids moléculaire ont tendance à plus s'absorber que ceux à haut poids moléculaire, qui sont essentiellement retenus dans les sols ou sur les racines. La composition des HAP présents dans les parties aériennes est donc différente de celle du sol et des racines, les HAP à 2 et 3 cycles dominaient (Minkina et al., 2022). Ces études ont également montré que plus le sol était contaminé, plus la plante absorbait des HAP (Cui et al., 2015 ; Minkina et al., 2022), comme c'était le cas pour les métaux. Enfin, la majorité des études a montré que les HAP étaient principalement accumulés dans les racines (Jeelani et al., 2020 ; Sushkova et al., 2021 ; Minkina et al., 2022) contrairement à (Cui et al., 2015) où les feuilles accumulaient plus que les racines. Ainsi, l'absorption d'HAP par les racines et les processus de translocation vers les parties aériennes semblent être dépendant de plusieurs facteurs : l'hydrophobicité, le poids moléculaire, le niveau initial d'HAP dans le sol/sédiment, l'espèce de plante et son cycle de croissance, et le type de sol (teneurs en matières organiques, pH etc) (Sushkova et al., 2021).

Concernant les **AP et BPA**, seulement des études au niveau d'autres espèces de plantes ont été rapportées. Jiang et al. (2019c) ont étudié l'accumulation du 4-NP dans des tomates pendant 28 jours d'exposition à différentes concentrations. Ils ont montré que plus du 4-NP était présent, plus la tomate en accumulait dans les parties aériennes et souterraines, avec plus d'accumulation dans ces dernières. Le 4-NP était absorbé mais faiblement depuis le sol par les racines (2,1 et 23,9 ppm accumulés à des teneurs dans le sol de 25 et 400 ppm), puis partiellement transloqué vers les parties aériennes (1,39 et 18,03 ppm accumulés à des teneurs dans le sol de 25 et 400 ppm), malgré un log Kow supérieur à 4. Concernant le BPA, avec un log Kow plus faible, il est attendu d'avoir une accumulation modérée, plus élevée que pour le 4-NP. Dodgen et al. (2013) ont évalué l'accumulation de ¹⁴C-BPA et ¹⁴C-4-NP dans de la laitue et du chou irrigués en hydroponie avec de l'eau contaminée (46,4 et 110,4 ng/L de BPA et 4-NP respectivement) après 21 jours d'incubation. L'accumulation était significativement plus élevée dans les racines pour le BPA et le 4-NP. La translocation vers les parties aériennes (tiges et feuilles) était donc faible pour ces composés (441,7 ng/g contre 0,30 et 0,36 ng/g pour le BPA ; 926,9 contre 4,31 et 2,59 ng/g pour le 4-NP dans les racines, tiges et feuilles respectivement). Wang et al. (2018) ont évalué l'absorption du BPA et 4-NP du blé planté dans un sol pendant l'hiver enrichi en concentrations croissantes de polluants. L'expérience a duré 240 jours. Ils n'ont pas montré cette fois-ci une augmentation de l'accumulation avec l'augmentation des teneurs dans le sol, mais l'inverse. L'accumulation la plus élevée était dans les racines (1,05 à 4,20 mg/kg pour le 4-NP, 0,29 à 0,20 mg/kg pour le BPA), puis dans les tiges et feuilles et enfin dans les graines (0,23 à 0,77 mg/kg pour le 4-NP, > LQ pour le BPA). Ils ont finalement calculé que la quantité totale de BPA dans le blé représentait 2,35 à 4,95 % de la quantité initiale, tandis que pour le 4-NP, cela représentait entre 8,99 et 28,24 %. Pour finir, une fois ces composés organiques absorbés par la plante, ils peuvent, contrairement aux ETM, être métabolisés par la plante pour former des métabolites. Pour le BPA, Nakajima et al. (2004) ont

montré qu'il pouvait être métabolisé dans les tissus végétaux par Glycosylation, mais il existe d'autres façons également, par hydroxylation ou encore oxydoréduction.

Tableau 1.22 : Teneurs (teneur moyenne ou min-max observés) en MPO et facteurs associés (FBC : Facteur de bioconcentration ; FT : Facteur de translocation) dans les tissus de *Phragmites australis* (P.au) retrouvées dans la littérature sous différents contextes : Zone humide artificielle (ZHA), sol contaminé, sédiment contaminé, recevant des eaux contaminées ou non. Les teneurs sont ici en µg/kg. (Cui et al., 2015 ; Sushkova et al., 2021 ; Minkina et al., 2022 ; Jeelani et al., 2020). La synthèse des valeurs minimum et maximum observées n'a pas été réalisée car la façon d'analyser les HAP différerait selon l'étude.

| Contexte | MPO étudié | Partie analysée | Teneur dans le sol/sédiment (µg/kg) (min-max) | Teneur dans P. au selon les différentes parties (µg/kg) (min-max) | FBC pour les parties souterraines, FT pour les parties aériennes (min-max) | Source |
|---|--|-----------------|--|--|--|-----------------------|
| ZHA pilote planté de P.au fonctionnant pendant 2 ans. P.au prélevée à la fin de la phase de croissance | 16 HAP prioritaires | Racines | - | % HAP poids moléculaire (PM) faible : 70,4 % HAP PM moyen : 12,9 % HAP PM élevé : 16,7 Σ HAP : 7313 | Selon les 16 HAP : 0,403-11,99 | Cui et al., 2015 |
| | | Tiges | - | % HAP PM faible : 76,9 % HAP PM moyen : 15,4 % HAP PM élevé : 7,7 Σ HAP : 7002 | | |
| | | Feuilles | - | % HAP PM faible : 40,5 % HAP PM moyen : 47,1 % HAP PM élevé : 12,4 Σ HAP : 7814 | | |
| Plaine inondable d'une rivière et récepteur d'eau de ruissellement industriel. Sédiment et P.au prélevés en été (Russie) | 16 HAP prioritaires | Souterrain | Σ HAP : 2001,1-4229,4 | Σ HAP : 286,0-327,1 | - | Sushkova et al., 2021 |
| | | Aérien | | Σ HAP : 175,7-333,8 | | |
| Zone humide autour d'un delta de rivière plus ou moins contaminée. P.au et sols prélevés au début de l'été (Russie) | 15 HAP (regroupés selon le nombre de cycles aromatiques) | Souterrain | Sites contaminés 2 cycles : 27,0-32,2 3 cycles : 64,7-107,3 4 cycles : 149,7-250,0 5 cycles : 126,9-140,0 6 cycles : 86,0-146 | 2 cycles : 13,5-15,0 3 cycles : 29,2-44,4 4 cycles : 53,2-91,6 5 cycles : 34,0-39,1 6 cycles : 14,6-25,2 | - | Minkina et al., 2022 |
| | | Aérien | | 2 cycles : 11,1-11,3 3 cycles : 17,0-19,6 4 cycles : 14,3-16,1 5 cycles : 4,0-4,1 6 cycles : 0,17-0,25 | | |
| Mésocosmes au laboratoire : sol agricole non contaminé, enrichi en Cd (20-40 ppm) et pyrène (0-50-100 ppm). P.au et sédiments prélevés après 75 j (Chine) | Pyrène (HAP) | Souterrain | 0-50 000-100 000 | 3 420-4 320 | 0,03-0,07 | Jeelani et al., 2020 |
| | | Aérien | | 1 110-1 440 | 0,27-0,54 | |

Ainsi, le mécanisme d'accumulation de polluants organiques et métalliques existe dans la végétation, notamment chez *P. australis*. Il semble plus important pour les composés organiques faiblement à modérément hydrophobes, mais il reste un mécanisme mineur pour les métaux. En effet, pour ces derniers, Schmitt et al. (2015) ont montré que cela représentait moins de 0,1 % des ETM retenus dans un FPR.

Les différentes études précisent la préparation des plantes pour analyse, indispensable pour l'interprétation des résultats. Aucune préparation n'est expliquée ou bien un rinçage à l'eau distillée, voir à l'eau ultrapure est juste précisé. Lorsqu'aucune préparation n'est précisée, il est impossible de savoir

si les polluants absorbés sont uniquement considérés. Les polluants adsorbés ou déposés à la surface de la plante peuvent également être inclus dans l'analyse, faussant alors les résultats.

Pour finir, les roseaux des FPR sont généralement faucardés tous les ans à tous les deux ans. Une **exportation** d'une partie des micropolluants est alors réalisée. Les roseaux sont alors considérés comme un déchet, et selon les concentrations en micropolluant, ils peuvent ou non être **valorisés**. Une valorisation des déchets verts peut se faire par leur utilisation comme amendements organiques pour l'agriculture. Plusieurs points doivent alors être respectés pour ne pas risquer de dégrader l'exploitation : composition équilibrée (rapport C/N), absence d'indésirables, et absence de risque pour l'environnement et les êtres vivants (*Chambre Régionale d'Agriculture PACA 2022*). Pour ce dernier critères, une norme et un texte européen ont défini des teneurs seuils de micropolluants dans les tissus aériens des végétaux (mg/kg sec) : la norme NF U44-051 (*AFNOR, 2006*) et un label écologique de l'Union Européenne (*Commission Européenne, 2022*). Ces valeurs seuils varient entre 1 et 3 mg/kg pour le Cd, entre 100 et 120 mg/kg pour le Cr, 200 à 300 mg/kg pour le Cu, 40 à 60 mg/kg pour le Ni, 100 à 180 mg/kg pour le Pb et 300 à 600 mg/kg pour le Zn. Trois HAP ont des valeurs seuils définies également dans le label écologique : 4 mg/kg pour le Fluoranthène, 2,5 mg/kg pour le Benzo(b)fluoranthène et 1,5 mg/kg pour le Benzo(a)pyrène.

En comparant les données des ETM de la littérature avec ces seuils, aucune teneur recensée en Cr, Cu, Ni et Pb des parties aériennes (tiges et/ou feuilles) n'a dépassé les deux seuils (Tableau 1.21). En revanche, les teneurs maximales en Zn dans les tiges de l'étude de *Al-Homaidan et al. (2020)* et *Nawrot et al. (2021a)* dépassaient le seuil du label européen (387,8 et 473 mg/kg respectivement) et celles dans les feuilles de la seconde étude également (340 mg/kg). De plus, les teneurs maximales en Cd des parties aériennes dépassaient également les deux valeurs seuils dans l'étude de *Al-Homaidan et al. (2020)* (4,6 et 3,8 mg/kg dans les tiges et feuilles respectivement). Cela indique qu'en contexte d'eaux de ruissellement (*Nawrot et al., 2021a*), les teneurs restent en deçà des seuils imposés sauf pour le Zn qui est l'ETM généralement le plus concentré dans les eaux de ruissellement (*Flanagan et al., 2018 ; Gasperi et al., 2022*). Concernant les HAP, aucune valeur n'a relevé un dépassement de seuil, même regroupés selon plusieurs composés (hors somme des 16 HAP), indiquant une faible contamination des tissus aériens des roseaux.

III-1.4. Rôles secondaires

Les roseaux se renouvellent annuellement (cycle des roseaux) ; les parties aériennes (une fois par an) et souterraines (environ une fois tous les deux ans) constituent une source de matières organiques dans l'ouvrage ce qui permet **d'augmenter les teneurs en matières organiques** initialement faibles dans les FPR (*Lee et Scholz, 2007*). Ces matières organiques et ses produits de dégradation serviront à la fois de source de carbone et d'énergie pour les microorganismes, la faune autochtones mais également des sites d'adsorption pour les micropolluants apportés par les eaux.

La présence de végétation impacte également le microclimat du FPR. La couverture végétale sur le filtre permet la mise en place de gradients pour différents paramètres entre l'atmosphère et le sol : les vitesses de vents sont réduites, la lumière et la pénétration des ultraviolets sont atténuées ce qui permet de limiter la production d'algues (mais également la photodégradation) et le FPR est thermiquement isolé (*Vymazal, 2002*). En effet, les débris végétaux en hiver (litière) isolent le sol donc limitent le gel et des températures trop froides (donc maintient l'activité microbienne), mais ils gardent également le sol plus frais au printemps, ce qui peut impacter l'activité microbienne (*Brix, 1997 ; AFNOR, 2011*). En été, la couverture fournit de l'ombre ce qui maintient fraîcheur et humidité et empêche donc le FPR de dessécher (*EPNAC, 2014 ; AFNOR, 2011*) (favorable également à l'activité microbienne).

La présence de roseaux dans des FPR est un réel avantage esthétique permettant la **valorisation paysagère** du site. Ils rendent moins perceptible l'ouvrage en lui-même et permettent une intégration paysagère dans l'environnement autour, allant même jusqu'à permettre des usages récréatifs et/ou pédagogiques dans certains cas (espace vert ouvert, espace de découverte de procédés) (*Boutin et Dutartre, 2014*).

Finalement, la végétation établie permet **d'abriter une faune diversifiée** au sein de la ZHA : oiseaux, reptiles, mammifères. Cette fonction est notamment très importante en ville puisqu'elle améliore la biodiversité urbaine (Brix, 1997).

III-1.5. Conclusion

La végétation dans les FPR est donc très importante puisqu'elle porte des fonctions nécessaires au traitement du ruissellement. Les effets les plus importants sont d'ordre **physiques** (contrôle de la perméabilité, du colmatage et de l'érosion), et **biologiques** (support des communautés microbiennes et modification de l'environnement rhizosphérique). Les différentes fonctions portées par les roseaux sont synthétisées dans l'Annexe 1-7 La présence de la végétation offre une grande diversité de micro-habitat qui provoque la présence de communautés microbiennes différentes, donc une diversité importante. Enfin, l'accumulation de polluants dans les tissus est restée faible au niveau de *P. australis*. Les racines présentaient les teneurs en polluants les plus élevées, et les MPO faiblement à moyennement hydrophobes étaient les polluants les plus accumulés dans les tissus.

Même si les *P. australis* présentent de nombreux avantages, il faut toutefois rester vigilant sur quelques points. Les polluants accumulés dans la plante au cours d'un cycle sont libérés dans le FPR à sa mort, ce qui peut rendre la fonction d'accumulation de polluants inutile s'ils sont laissés tels quels en surface de l'ouvrage. De plus, l'accumulation de litière de *P. australis* en surface de l'ouvrage impacte la zone de flaquage du filtre dont le volume devient progressivement plus faible (Lee et Scholz, 2007 ; Molle et al., 2006). C'est pourquoi, un **faucardage** annuel est préconisé dans un contexte d'eaux usées et un faucardage tous les deux ans dans un contexte d'eau de ruissellement, avec l'exportation de la végétation hors du FPR (Molle et al., 2013).

L'utilisation de plantes permet donc des interactions positives avec les microorganismes et les substrats qui favorisent alors la rétention et l'élimination des polluants ; elles sont donc indispensables dans les systèmes tels que les FPR. Un autre facteur biotique est important à considérer, il s'agit des communautés microbiennes autochtones, objet de la prochaine session.

III-2. Rôles des microorganismes dans les filtres plantés de roseaux

III-2.1. Introduction

Bien que l'on sache que l'élimination de nombreux composés est la conséquence d'une combinaison de processus dont biologiques, principalement menés par les microorganismes, les communautés microbiennes et leurs rôles dans le fonctionnement et la performance des OGEP restent aujourd'hui peu documentés. La connaissance de ce rôle et de son évolution dans le temps et dans l'espace est cependant essentielle pour prédire, comprendre et gérer la performance des OGEP.

L'apport de polluants par les eaux de ruissellement va entraîner de nouvelles interactions entre les polluants et les microorganismes des sols/substrats des OGEP de façon directe (sélection d'organismes tolérant la présence du polluant apporté par exemple) et indirecte (changement des propriétés physico-chimiques du sol par exemple). Ainsi, cette section vise à renseigner sur le rôle des communautés microbiennes dans le fonctionnement des sols/substrats, en particulier ceux des OGEP.

III-2.2. Microorganismes dans les sols

III-2.2.1. Généralités et fonctions principales

Les microorganismes, particulièrement les bactéries et champignons, sont essentiels dans les sols puisqu'ils participent à sa formation, son évolution et son fonctionnement, notamment au travers de leur participation aux cycles biogéochimiques des éléments majeurs, mineurs et oligoéléments. Dans le cas de polluants organiques, les microorganismes sont un maillon essentiel de leur dégradation et donc de leur devenir et transferts éventuel vers la chaîne trophique. L'ensemble des microorganismes

présents dans un milieu donné est appelé **communauté microbienne**. Les communautés qui se développent dans un sol ou un substrat sont alors dites autochtones.

Les sols sont des environnements complexes, hétérogènes et structurés, conduisant ainsi à de nombreux microenvironnements différents qui influencent les microorganismes (*Badin et al., 2012 ; Kuzyakov et Blagodatskaya, 2015*). La diversité, répartition et la densité des microorganismes dans les sols est donc également hétérogène, elles dépendent des propriétés des sols. Par exemple, la structure d'un sol définit des microenvironnements plus ou moins riches en carbone organique ou en oxygène (macropores, micropores) qui vont influencer la communauté microbienne présente (*Gobat et al., 2010*). Ainsi, il y a différents niveaux d'études des microorganismes des sols : à grande ou petite échelle selon les questionnements de recherche. Cependant, ce sont surtout les bactéries qui sont influencées par les microenvironnements des sols, les champignons sont essentiellement influencés par les caractéristiques globales des sols (*Gobat et al. 2010 ; Badin et al. 2012*).

Les fonctions principales des microorganismes dans les sols sont les suivants (*Gobat et al., 2010*) : participation et contrôle des cycles biogéochimiques de nombreux éléments (carbone, azote, phosphore, soufre, fer...); minéralisation et stabilisation des matières organiques; oxydation, réduction, précipitation et solubilisation de composés inorganiques; fixation de l'azote; fournir des nutriments inorganiques aux plantes et favoriser leur croissance. Ils jouent également, à travers certains de leur composants ou métabolites (mycélium, polysaccharides, parois...), un rôle dans la cohésion, la stabilité des particules du sol et autres propriétés de ce dernier (pH, potentiel d'oxydoréduction, CEC, humidité...).

Les rôles des microorganismes dans les sols sont donc aujourd'hui connus. Une des utilisations phares de ces fonctions est la bioremédiation (décontamination *in situ* fondée sur l'utilisation des microorganismes pour dégrader des pollutions organiques) en vue de diminuer les teneurs en polluants et réduire les flux de leur fractions toxiques.

III-2.2.2. Caractérisation microbiologique des sols/substrats

Plusieurs approches méthodologiques existent pour décrire les communautés microbiennes dans les écosystèmes terrestres.

- **L'abondance microbienne** est le nombre de microorganismes présents dans un échantillon. De nombreuses méthodes ont été développées : respiration induite par substrat (SIR) (*Anderson et Domsch, 1978*), marquage des cellules (DAPI, acridine orange) puis comptage direct au microscope à épifluorescence (cytométrie de flux ou microscope) (*Porter et al., 1997*), culture sur boîte de pétri puis comptage du nombre de colonies formant unité, méthode du nombre le plus probable (NPP) (*McCrary, 1915 ; Sutton, 2010*), dosage de l'ATP, dosage des PLFA (extraction et analyses de lipides) (*Fabre, 2014*), extraction par fumigation puis dosage (*Joergensen, 1996*). La diversité des méthodes est donc importante, mais toutes présentent des avantages et inconvénients.

- **Les fonctions microbiennes** traduisent le rôle des communautés dans divers cycles biogéochimiques (carbone, azote, phosphore, soufre, etc), c'est-à-dire les fonctions que portent les microorganismes dans les sols. Une approche pour évaluer ces fonctions est le **dosage d'activités enzymatiques**. Les enzymes sont des protéines ayant des propriétés catalytiques spécifiques, qui permettent la dégradation de substrats environnementaux (*Chevion et al., 2015*). Ces enzymes sont d'origine principalement microbienne même si les exsudats de racines de plantes, ainsi que les résidus de culture, ou encore les animaux du sol et les déjections animales libèrent aussi des enzymes (*Chevion et al., 2015*). Les enzymes dans les sols sont présentes sous forme d'enzymes libres, telles que les exoenzymes libérées par les cellules vivantes, les endoenzymes libérées par les cellules en désintégration et les enzymes liées aux constituants cellulaires tels que les cellules en désintégration, dans les fragments cellulaires et dans les cellules viables mais non proliférantes (*Tabatabai, 1994*). Toutes les activités biochimiques du sol passent par des processus enzymatiques. Ces enzymes sont importantes dans les sols car elles sont des médiateurs et catalyseurs de différents processus biogéochimiques importants dans le fonctionnement du sol : dégradation des molécules organiques et de leur minéralisation, cycle des nutriments, décomposition et formation des matières organiques, décomposition de xénobiotiques, fixation de l'azote etc. (*Asensio et al., 2010 ; Chevion et al., 2015 ;*

Godden, 1998). Il existe différentes familles d'enzymes : (Asensio et al., 2010 ; Alvarez et al., 2002) les oxydoréductases et les hydrolases. Ces dernières ont reçu plus d'attention dans la littérature.

- *Les oxydoréductases* : Enzymes de type respiratoire dont la plus courante est la déshydrogénase (ensemble de plusieurs enzymes), qui permet une estimation rapide de l'activité globale du sol (Skujinš et Burns, 1976). Les systèmes enzymatiques déshydrogénase jouent un rôle important dans l'oxydation de la matière organique du sol (Tabatabai, 1994) en agissant comme accepteur d'électrons et de protons

- *Les hydrolases* : la plupart des enzymes du sol appartiennent à ce groupe. Il y a les hétérosidases (B-glucosidase, α -glucosidase, B-xylosidase etc) qui catalysent l'hydrolyse de différents glycosides (libérant alors des mono ou polysaccharides) participant alors au cycle du carbone, les phosphatases (acides et alcalines) qui catalysent l'hydrolyse des esters et anhydrides de H₃PO₄ (Tabatabai, 1994) participant alors au cycle du phosphore, ou encore l'uréase qui est impliquée dans l'hydrolyse de l'azote organique, l'urée participant alors au cycle de l'azote. Il existe également une technique de dosage de l'activité enzymatique totale du sol par la mesure de l'hydrolyse de la fluorescéine di-acétate (HFDA) (Green et al., 2006). C'est une molécule qui peut être hydrolysée par de nombreuses enzymes produites par les bactéries et champignons et permet donc une mesure plus globale des activités enzymatiques.

Une autre approche peut être utilisée pour évaluer les fonctions des bactéries hétérotrophes uniquement : les **microplaques Biolog EcoPlates**. Il s'agit de microplaques contenant différents substrats carbonés et azotés, permettant de réaliser une analyse plus large des fonctions. 6 classes de composés sont ainsi incluses : carbohydrates, polymères, acides carboxyliques et cétoniques, acides aminés et amines/amides, et leur dégradation ou non par l'échantillon permet de connaître le profil physiologique de la communauté bactérienne (Weber et Legge, 2009). Etant en conditions contrôlées, cette mesure fournit un potentiel fonctionnel.

- **La diversité génétique** est une approche moderne d'étude des communautés microbiennes faisant appel aux techniques de biologie moléculaire. Elles consistent à extraire, quantifier et caractériser l'ADN ou l'ARN notamment par les techniques de séquençage. Etudier l'ADN permet d'observer une population microbienne **totale** (donc un potentiel) dans un échantillon, tandis qu'étudier l'ARN permet d'observer sa population **active**. Pour se faire, une extraction de la molécule cible est réalisée (ADN, ARN...), puis une PCR est réalisée pour amplifier le signal de la molécule à l'aide d'une amorce. Enfin le séquençage peut avoir lieu au travers d'approches NGS, comme le séquençage Illumina ou nanopore. Des séquences de nucléotides sont alors obtenues, elles peuvent finalement être identifiées par comparaison sur des bases de données. Dans notre cas, l'amorce utilisée va permettre de cibler les organismes recherchés, c'est-à-dire les bactéries et champignons. Il est également possible de réaliser un séquençage de l'ensemble de l'ADN contenu dans un échantillon (diversité totale d'un échantillon). Pour étudier les procaryotes (bactéries, archées), les amorces ciblent le gène de l'ARN 16S au travers de régions variables choisies (régions V1 à V9, correspondant à différentes régions du gène 16S) (Fukuda et al., 2016), communes aux différents procaryotes. Concernant les eucaryotes (champignons), un autre gène commun est ciblé, il s'agit du gène de l'ARN 18S au travers de l'espace interne transcrit (ITS) compris entre les régions 18S, 5.8S ou encore 28S (Mitchell et Zuccaro, 2006). Finalement, une fois les séquences obtenues et assignées à des taxons, plusieurs traitements statistiques des données peuvent être réalisés afin de caractériser ces communautés ciblées.

III-2.2.3. Communautés microbiennes des sols rhizosphériques

Dans la partie précédente, nous avons vu que les plantes favorisaient le développement microbien au travers de l'**effet rhizosphérique**. Cet effet est maintenant détaillé. L'**activité microbienne ainsi que les activités enzymatiques** des sols de la rhizosphère sont généralement plus élevées que celles du sol sans végétation (Pinton et al., 2007), car le sol rhizosphérique est un environnement plus riche en substrats organiques. Plusieurs auteurs ont pu mettre cet effet sur les activités enzymatiques en évidence. Tout d'abord, Marschner et al. (2005) ont étudié les activités enzymatiques (β -glucosidase et protéase) dans le sol rhizosphérique ou non de trois espèces végétales (*B. attenuata*, *B. ilicifolia* et *B. menziesii*) ; ils ont montré une augmentation de ces activités à proximité

des racines par rapport au sol non rhizosphérique. Cependant, dans une autre étude, *Marschner et al. (2012)* ont évalué que bien que des différences de compositions microbiennes aient été obtenues, les activités enzymatiques impliquées dans la dégradation de composés organiques (b-glucosidase, xylosidase, phosphatase acide et leucine peptidase) dans la rhizosphère de maïs n'avaient pas montré de gradients distincts. Le développement de mesures non destructives en imagerie, comme la zymographie (technique de quantification de l'activité enzymatique par fluorescence), a permis d'observer des gradients d'activités enzymatiques de la racine au sol non rhizosphérique. *Spohn et al. (2013)* ont étudié les activités enzymatiques (protéase et amylase) d'un sol rhizosphérique (planté de lupin) à l'aide de zymographie. Les plus fortes activités enzymatiques ont été retrouvées près des racines de la plante, avec un gradient décroissant en s'éloignant de la plante. Une autre étude sur le lupin en zymographie (*Spohn et Kuzyakov 2013b*) a montré que les phosphatases acides et alcalines étaient 5,4 fois plus élevées dans la rhizosphère par rapport au sol classique, la cartographie des activités étant très proche de la structure des racines.

L'effet rhizosphérique impacte également l'**abondance microbienne**. En effet, *Marschner et al. (2012)* ont montré qu'un gradient de l'abondance (au travers de la mesure des PLFAs) des bactéries et champignons était visible dans la rhizosphère, avec des abondances plus élevées dans les premiers 1-2 mm de distance par rapport à la racine. Dans une revue, *Kuzyakov et Blagodatskaya (2015)* estiment que dans la rhizosphère les microorganismes seraient 4 fois plus abondants que dans un sol non rhizosphérique.

Enfin, les **communautés microbiennes** présentes dans le sol rhizosphérique ont également été étudiées, et des différences sont observables. Les études ont été réalisées sur de nombreuses plantes, et l'espèce utilisée joue un rôle important sur la structure des communautés microbiennes. C'est pourquoi, nous nous concentrerons dans cette partie sur les communautés rhizosphériques de *Phragmites australis* uniquement, principale espèce du système expérimental, avec la comparaison des communautés d'un sol non rhizosphérique.

Tout d'abord, une différence significative des communautés microbiennes est généralement observée lorsque du sol rhizosphérique et non rhizosphérique sont comparés, avec une plus forte diversité (alpha) dans le sol rhizosphérique (*He et al., 2020 ; Huang et al., 2020 ; Wang et al., 2022*). Les bactéries dans le sol rhizosphérique de *P. australis* sont surtout représentées par les *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* et *Bacteroidetes*. De plus, les bactéries anaérobies sont moins présentes dans le sol rhizosphérique contrairement au non rhizosphérique, lié à l'oxygénation du sol par les racines (*Huang et al., 2020*). Cependant, comme les *P. australis* peuvent se développer dans de nombreux environnements différents (type de sol/sédiment, type d'eau et de régime hydrique, pH, nutriments etc), la structure des communautés peut beaucoup varier selon l'environnement étudié. Particulièrement, la qualité de l'eau reçue exerce une forte influence sur les caractéristiques structurales et fonctionnelles des communautés microbiennes de *P. australis* (*Clairmont et Slawson, 2020*). L'environnement a été démontré comme jouant un rôle plus important que la rhizosphère dans la structuration des communautés microbiennes (*He et al., 2020*). Le type de *P. australis* impacte également les communautés rhizosphériques ; *Bowen et al. (2017)* ont montré des différences significatives de communautés entre des *P. australis* natives, de golf et introduites, celles ayant les communautés les plus différentes des autres étaient les introduites.

III-2.3. Communautés microbiennes des ouvrages de gestion des eaux pluviales

La documentation concernant les communautés microbiennes dans les OGEP est encore rare, notamment dans les FPR. Quelques articles ont étudié les communautés microbiennes dans les OGEP au travers de l'étude de leur diversité fonctionnelle (activités enzymatiques, potentiel fonctionnel par utilisation de plaques BIOLOG EcoPlates ...), la biomasse microbienne ou encore la respiration microbienne.

Le rôle des microorganismes sur l'élimination de l'azote ou du phosphore est le plus souvent étudié (*Weijie et al., 2014 ; Jiang et al., 2019a ; 2019b ; Guo et al., 2019 ; Font Nájera et al., 2020*) ou bien de MPO (*Ruppelt et al. 2020*). Les études portaient surtout sur l'efficacité d'OGEP ou de colonnes à les éliminer, et voir si des relations existaient avec les activités enzymatiques ou le potentiel fonctionnel.

Par exemple, *Ruppelt et al. (2020)* ont évalué dans un mésocosme simulant une ZHA traitant des eaux de débordement d'égouts le rôle des communautés sur l'efficacité épuratoire de MPO (carbamazépine et le sulfaméthoxazole,). Ils ont montré que l'activité était plus importante en surface qu'en profondeur, indiquant que la disponibilité en oxygène était un facteur important. De plus, ils ont corrélé l'efficacité d'élimination des MPO aux résultats de potentiel fonctionnel à l'aide des microplaques BIOLOG. Certains MPO étaient corrélés à des sources de carbone des microplaques, mais l'étude n'est pas allée plus loin. D'autres ont évalué l'impact de la diminution de température sur l'activité microbienne (*Shaokun Wang et al. 2023*). Les bactéries liées à l'élimination de l'azote étaient les plus sensibles aux diminutions de température. Dans une autre étude en mésocosmes de ZHA pour le traitement des eaux de ruissellement (*Weijie et al. 2014*), l'évolution des activités microbiennes (phosphatase et uréase notamment) a été étudiée et reliée à l'élimination de l'azote et phosphore pendant un an. Des corrélations positives entre l'activité phosphatase et l'élimination du phosphore étaient révélées ainsi qu'entre l'activité uréase et l'élimination de l'azote suggérant leur rôle important dans leur élimination. De plus la ZHA à écoulement vertical a montré des activités plus élevées en été et automne, liée à la croissance des plantes. Ainsi, l'alimentation en eau de ruissellement et le développement de la végétation permettaient une meilleure activité, qui améliorait en retour l'efficacité épuratoire de l'azote et du phosphore.

L'abondance et l'activité microbienne restent trop peu étudiés à ce jour dans les OGEP. Plus d'articles concernant la caractérisation génétique des communautés microbiennes ont été trouvés, mais leurs rôles au sein des OGEP, notamment en termes de biodégradation des MPO ne sont pas encore assez étudiés alors qu'elles sont des acteurs fondamentaux dans le fonctionnement de cet écosystème. Aussi, la section suivante présentera ces résultats sur les quelques OGEP ayant été étudiés. 7 articles ayant caractérisé la diversité microbienne des OGEP *in situ* ont été recensés (*Rotaru et al., 2011 ; Badin et al., 2012 ; Gillet et al., 2017b ; Hong et al., 2018 ; Gill et al., 2020 ; Li et al., 2021 ; Geronimo et al., 2022*), d'autres l'ont fait au travers d'expériences au laboratoire, donc moins représentatives de la réalité (*HongE et al., 2022 ; Fraser et al., 2018 ; Zuo et al., 2020*).

III-2.3.1. Diversité génétique des communautés microbiennes dans les ouvrages de gestion des eaux pluviales

Tout d'abord, les recherches les plus anciennes (2011-2012) s'étaient intéressées à l'étude des **sédiments** d'OGEP.

Rotaru et al. (2011) ont étudié les communautés bactériennes dans les sédiments d'un bassin d'infiltration des eaux de ruissellement d'autoroute selon les teneurs en oxygène mais également l'impact des pollutions par des polluants contenus dans ces eaux (notamment les agents de déglacage organiques) sur la diversité microbienne. En effet, la présence de polluants organiques crée une demande biologique en oxygène qui réduit la concentration en oxygène dans les eaux souterraines recevant les eaux polluées par rapport aux eaux souterraines de fond. Le ruissellement de la route génère donc un panache d'eaux souterraines, avec des conditions anoxiques au-dessus du plafond du panache, et des conditions d'oxygène dissout ambiantes en dessous du panache. Deux carottes de sédiment (appelées BMS et BCS dans l'étude) ont été prélevées dans une zone située dans le panache de contaminant, situées respectivement à 29 m et à 38 m en aval du bassin d'infiltration. Des analyses génétiques (séquençage de l'ADN 16S) ont été réalisées afin d'étudier l'impact des eaux sur les communautés bactériennes.

Les communautés microbiennes du sol dans l'aquifère contaminé par les eaux de ruissellement de la route étaient hétérogènes et une large distribution de phylotypes était représentée. Les bactéries des bibliothèques de clones ont été classées dans 17 embranchements bactériens : *Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Chlorobi, Chloroflexi, Cyanobacteria, Firmicutes, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Nitrospirae, Planctomycetes, Proterobacteria, Spirochaetes, Synergistetes, Tenericutes, Thermodesulfobacteria et Verrucomicrobia*. Ils ont observé que les communautés bactériennes changent de composition et de structure avec la profondeur et la distance de l'origine du bassin d'infiltration. Chez BMS, le plus en surface, les classes des *Clostridia* et *Anaerolineae* étaient prédominants, mais vers le fond du panache, les séquences apparentées à *Alphaproteobacteria* et les *Deltaproteobacteria* (avec les *Geobacteraceae* qui dominent) sont devenues prédominantes. Enfin,

dans l'aquifère ambiant (sous le panache), la banque de clones était dominée par les *Actinobactéries* et les *Alphaproteobactéries*. Chez BCS, les classes dominantes étaient les *Bêtaprotéobactéries*, les *Alphaprotéobactéries* et les *Deltaprotéobactéries* dans le panache contaminé et des *Alphaprotéobactéries*, des *Deltaprotéobactéries* et des *Actinobactéries* dans l'aquifère ambiant. La distribution de la communauté microbienne était donc positivement associée à la présence d'oxygène dans le sous-sol : près de la nappe phréatique et à des profondeurs moyennes (zone du panache contaminé), les bactéries anaérobies / facultatives prédominaient, mais à mesure qu'elles descendaient dans l'aquifère ambiant, les bactéries aérobies devenaient dominantes. Les communautés bactériennes s'adaptent donc à ces concentrations en oxygène dissous qui varient, et leur diversité restait globalement élevée.

Une étude des communautés bactériennes et fongiques au sein de différentes fractions granulométriques de sédiments d'un bassin d'infiltration (traitant les eaux de ruissellement d'un bassin versant urbain et industriel) a été entreprise par *Badin et al.*, (2012). L'objectif était de comparer les communautés microbiennes présentes dans les macroporosités (fraction lixiviable, donc surnageant du sol) et dans les agrégats (fractions plus protégées de l'extérieur, 160-1000 μ m).

Les auteurs ont montré que les biomasses bactériennes et fongiques étaient plus élevées dans les fractions <10 μ m et lixiviables (macroporosité) (autour de 7.10^{10} bactéries/g de la fraction sèche, et entre 1,69 à 6,87 μ g ergosterol/g de la fraction sèche) contrairement aux fractions les plus grossières. Cependant, en considérant la contribution du poids de chaque fraction, ce sont les fractions moyennes qui représentent 55 % du nombre total pour les bactéries. Ainsi, les fractions avec la biomasse la plus élevée par gramme de sol sont des fractions dont la contribution à l'ensemble est mineure. Globalement, les bactéries se retrouvent surtout dans les agrégats du sol tandis que les champignons se retrouvent surtout dans les macropores (fraction lixiviable). Concernant la composition des communautés bactériennes et fongiques, elles étaient hétérogènes pour la fraction la plus grossière et plus similaires dans les fractions plus petites. Ils ont ensuite étudié plus finement les compositions des communautés dans la fraction lixiviable (macroporosité) et agrégée. Pour les deux fractions, plus de 50 % des embranchements observés sont liés aux Protéobacteria, 40 % sont liés aux Cyanobacteria et Bactéroïdes et respectivement <3 et <2 % sont liés aux Actinobacteria et Acidobacteria. Les communautés bactériennes étaient différentes au niveau de plusieurs embranchements ; en effet, les agrégats contenaient significativement plus de Cyanobacteria (32,4 contre 7,6 %) tandis que les fractions lixiviables contenaient plus de Proteobacteria (63,5 contre 45,7 %, la principale différence est liée aux Epsilonproteobacteria) et de Firmicutes (6,6 contre 0 %). De plus, les communautés de ces deux fractions présentaient des indices de diversité de Shannon élevés mais différents : 7,64 (lixiviable) et 4,83 (agrégée). Ils n'ont cependant pas étudié en détail les communautés fongiques présentes dans ces fractions. Ils ont ainsi montré que la taille des particules a un impact sur la diversité microbienne, avec une différence confirmée entre les communautés dans les micropores (agrégats) et macropores (fraction lixiviable). De plus, les Cyanobacteria étaient fortement présentes dans ces sédiments ; leur présence pourrait suggérer que l'utilisation du carbone par la photosynthèse est plus compétitive que la dégradation de la matière organique dans le bassin d'infiltration, ce qui reste cohérent dans ce contexte où la matière organique de sédiments est peu biodisponible et assez récalcitrante à la biodégradation.

Des articles plus récents se sont intéressés aux communautés microbiennes dans les **sols/substrats** des OGEP cette fois.

Gill et al. (2017b) ont étudié les communautés microbiennes actives et totales de sols de deux types de noues en bord de route et de sols urbains non aménagés (parcs et fosses d'arbres) afin de tester l'hypothèse selon laquelle les OGEP ont des communautés bactériennes distinctes en termes de structures et de fonctions par rapport aux sols urbains non aménagés, en raison de l'apport de micropolluants.

Les résultats indiquaient que les communautés bactériennes totales dans les noues étaient significativement distinctes de celles des sites non aménagés. Parmi les taxons dont l'abondance relative est supérieure à 1 %, les Protéobactéries et les Bactéroïdes ont été significativement plus

abondants dans les noues, tandis que les sites non aménagés présentaient des abondances plus élevées d'Actinobactéries et de Verrucomicrobies. Pour l'ADN et l'ARN, les noues avaient une diversité phylogénétique, une richesse et une diversité de Shannon plus élevées que les sites non modifiés. Cependant, malgré les différences entre les noues et les sols non aménagés, tous les sites étaient dominés par cinq classes bactériennes, qui représentaient ensemble plus de 47 % des phylotypes de chaque site (ADN) : Alphaproteobacteria (abondance de 12,9 %), Betaproteobacteria (12,5 %), Deltaproteobacteria (10,7 %), Gammaproteobacteria (9,2 %), ainsi que Acidobacteria-6 (9,2 %). Les communautés actives comprenaient des taxons relativement plus rares que les communautés totales et plusieurs embranchements très abondants présentaient également une abondance différenciée en ARN et en ADN. Ils ont ainsi révélé que les sols de noues avaient une biodiversité microbienne et un potentiel fonctionnel plus élevés par rapport aux autres sols urbains non aménagés. Ces différences peuvent être dues au flux intentionnel d'eaux pluviales, qui présentent une plus grande diversité de ressources nutritives et de facteurs de stress que les précipitations, principal apport en eau de la plupart des sols urbains non modifiés. Enfin, l'étude de l'ARN semble être à privilégier pour étudier la diversité des populations fonctionnelles car c'est l'indicateur de l'activité réelle d'un sol alors que l'ADN reflète l'activité potentielle du sol.

En 2020, *Gill et al.* ont réalisé une deuxième étude, suite à celle de 2017, à plus grande échelle des communautés microbiennes dans des OGEP (25 noues et 11 toits verts, traitant des eaux de ruissellement urbaines) et des sols urbains non aménagés (3 pelouses de parcs et 34 fosses d'arbres). Sur chaque site, des échantillons de sol de surface ont été prélevés et des séquençages d'ADN bactérien (16S-V4) et fongique (ITS1) ont été réalisés.

Concernant les bactéries, la diversité phylogénétique était encore significativement plus élevée dans les OGEP que dans les sols témoins. Cependant, au niveau des embranchements, ces différences étaient moins marquées ; tous les sites présentent une composition globale de seulement 4 embranchements dominants (abondance totale > 80 %) : Protéobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria et Bacteroidetes. Verrucomicrobia était le phylum qui différencie le plus les sol aménagés et non aménagés, avec des abondances plus élevées dans les sites témoins (6 % contre 2 et 3 %). Les Acidobacteria étaient également plus abondantes dans les sites témoins (18 % contre 13 et 15 %). Bien que les différences soient faibles, les noues avaient une abondance de Proteobacteria plus élevée (46 % contre 41 et 40 % pour les toits et sols témoins). De plus, les bactéries participant au cycle de l'azote, de la décomposition et dégradation de la matière organique avaient une diversité génétique significativement plus élevée et celles participant au cycle de l'azote uniquement avaient une abondance relative significativement plus élevée que dans les sites témoins. Concernant les champignons, les communautés dans les noues étaient significativement plus diversifiées que dans les toits verts et sites témoins. Deux embranchements dominaient largement les trois types de sites : Ascomycota (71 à 74 % dans les ouvrages et 69 % dans les témoins) puis Basidiomycota (22 à 21 % dans les ouvrages et 22 % dans les témoins). Les noues et les toits verts avaient des compositions très similaires en champignons, même si les premières contenaient légèrement plus d'Ascomycota. Cette étude a donc permis de valider que les noues et toits verts avaient des communautés bactériennes et fongiques distinctes entre eux mais également entre les sites témoins (en termes de composition et fonction). Les noues présentaient une grande diversité phylogénétique bactérienne et fongique et les toits une grande diversité phylogénétique bactérienne, ainsi, ce sont des réservoirs efficaces de biodiversité en ville. De plus, les noues, et plus faiblement les toits verts avaient un potentiel fonctionnel plus élevé que les sols non aménagés en raison d'une diversité et abondance des taxons associés à des services écosystémiques (cycle de l'azote, décomposition et dégradation) plus élevés. La composition et la diversité des communautés n'était pas associées à la distance géographique, ainsi, les processus structurants ces différentes seraient plutôt liés aux types d'OGEP donc les types de conceptions.

En 2018, *Hong et al.* ont étudié les communautés microbiennes de deux jardins de pluie plantés (Raingarden, RG1 et RG2) recevant des eaux de ruissellement contaminées de différentes origines (eaux de toitures et eau de parkings respectivement) et d'âge différent (7 et 5 ans) afin d'identifier les facteurs de conception de tels ouvrages avec des fonctions biologiques optimisées. Des échantillons de sol ont été récupérés en entrée des deux ouvrages, et un échantillon témoin (IS, recevant un

uniquement des précipitations directes) a été prélevé à 1m des installations. Des séquençages de l'ARNr 16S pour étudier les communautés actives ont été réalisés.

Les résultats ont montré que le nombre de embranchements était différent entre les sites : IS > RG1 > RG2 et que les indices de dominance et de richesse étaient plus élevés chez IS. Ces mêmes indices étaient plus élevés au niveau de RG1 par rapport à RG2. Les communautés étaient donc plus diversifiées au niveau de IS, puis RG1 puis RG2, ce qui suit le gradient de contaminants reçus via les eaux de ruissellement. En effet, les charges de polluants sont plus élevées dans les eaux de ruissellement de parking (RG2) par rapport aux toitures (RG1), et IS ne reçoit que très peu de contaminants. Ces résultats contredisent ainsi ceux de Gill et al. (2017b). Concernant la diversité des embranchements, 8 embranchements dominants (>2,5 % d'abondance) étaient observés pour RG1 et RG2, contre 9 embranchements pour IS. 7 embranchements étaient similaires dans les trois sites : Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi, Planctomycetes, Bacteroidetes et Verrucomicrobia, en proportions variables. Les Proteobacteria dominaient dans tous les sites avec RG1 (40 %) > RG2 (36 %) > IS (29 %), puis ce sont les Acidobacteria avec IS (25 %) > RG2 (16 %) > RG1 (12 %) et enfin les Actinobacteria qui étaient plus importantes dans les RG1 et 2 et les Chloroflexi sont plus élevées pour IS et RG2. Les Firmicutes ont été retrouvés uniquement chez RG1 et les Gemmatimonadetes chez RG2 et IS. Les embranchements liés à des bactéries anaérobies strictes ou facultatives, Chloroflexi et Gemmatimonadetes étaient retrouvés surtout au niveau de IS et RG2 qui sont deux sols souvent en conditions anoxiques (teneurs en argiles plus élevées). Ils ont également observé les corrélations entre embranchements et propriétés du sol ; le pH a été le facteur le plus important pour la diversité microbienne et le deuxième facteur le plus important a été les teneurs en azote total et en matière organique. Finalement ils ont ainsi révélé que la qualité de l'eau, la stabilisation biologique des installations, les types de végétation, la profondeur des racines et la couverture végétale étaient des facteurs importants affectant les communautés microbiennes de ces types d'OGEP.

Dans la continuité de l'article de Hong et al. (2018), Li et al. (2021) ont étudié trois OGEP : une noue (7 ans), un jardin de pluie avec une composition conventionnelle (1,5 ans) et un autre avec en plus des résidus de traitement des eaux (1,5 ans) traitant des eaux de routes dans le premier cas et des eaux de toiture pour les jardins de pluie. Leurs objectifs étaient de déterminer les niveaux d'accumulations de polluants et leur effet sur la structure des communautés bactériennes en les comparant avec des échantillons non impactés par les eaux.

Dix embranchements étaient dominants dans les OGEP et sites témoins : Proteobacteria, Acidobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Verrucomicrobia, Firmicutes, Planctomycetes, Chloroflexi et Nitrospirae. Les Proteobacteria dominaient dans chaque site mais étaient plus abondants au niveau des OGEP (42 à 44 % pour les ouvrages, 30 à 32 % pour les témoins). En revanche, les Acidobacteria, le deuxième phylum majoritaire était plus abondant au niveau des témoins (21 à 23 % pour les témoins, 12 à 17 % pour les ouvrages). Ils ont ensuite étudié plus en détails les communautés au niveau du genre. L'humidité a été le facteur de structuration des communautés microbiennes le plus important. Les ETM jouaient également un rôle, avec une influence plus forte pour la noue, l'OGEP recevant plus d'ETM que les autres. En général, la contamination en ETM a réduit la diversité bactérienne.

Enfin, le seul article ayant étudié la diversité microbienne dans une ZHA traitant les eaux pluviales est finalement décrit. Geronimo et al. (2022) ont étudié 7 différents OGEP en termes de diversité microbienne et de leur relation avec les efficacités d'épuration de polluants. Les OGEP étaient une tranchée d'infiltration, un jardin de pluie, deux ZHA et 3 jardins de pluie traitant des eaux de ruissellement de route et de parking. Des échantillons de sol non alimentés en eaux de ruissellement ont été récupérés à des fins de comparaison. L'ADN 16S a ensuite été séquencé.

Les résultats ont montré dans un premier temps que le nombre de bactéries était plus faible dans les OGEP contrairement aux sols témoins, et le plus faible nombre était obtenu dans l'ouvrage n'ayant pas de végétation plantée (tranchée d'infiltration). Cependant, une plus grande diversité de familles et de genres bactérien a été observée par rapport aux sols d'origine. Concernant les taxons bactériens, les Proteobacteria étaient l'embranchement dominant dans les 7 OGEP (34 à 45 %), suivi des Acidobacteria (2,6 à 15,8 %) et Actinobacteria (9 à 16 %). L'abondance des Proteobacteria était plus

importante dans les OGEP par rapport au sol d'origine, mais celle des Acidobacteria était plus faible. Dans les deux ZHA, les embranchements dominants étaient les trois cités précédemment, avec également les Bacteroidetes (4,9 à 11,9 %), Firmicutes (0,9 à 15,8) et les Planctomycetes (6,4 à 8,1 %). Ils ont finalement étudié les corrélations entre les embranchements bactériens et les efficacités d'épuration des polluants. Les Acidobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi et Gemmatimonadetes avaient une corrélation positive élevée avec la plupart des efficacités d'élimination des polluants des différents OGEP (coefficient entre 0,62 et 0,86).

La majorité des articles publiés a donc étudié les communautés microbiennes au niveau de de l'embranchement, avec quelque fois une étude plus approfondie des genres ou espèces présentes. Les bactéries sont plus documentées que les champignons. Ces études étaient entreprises dans des OGEP différents (bassin d'infiltration, noue, toit vert, ZHA, jardin de pluie) et les échantillons prélevés étaient soit du sol, soit du sédiment ou encore du sable (un article). Les articles parus ont tout d'abord porté sur les sédiments des OGEP, et plus récemment, les sols/substrats des OGEP sont également devenus un sujet d'étude. De plus, les eaux de ruissellement provenaient de différents types de bassins versants (parkings, toits, routes, mélanges). Ces variables hétérogènes entre les publications rendent les comparaisons complexes.

Les **principaux embranchements** retrouvés dans ces différentes études in situ ainsi que leurs abondances sont finalement synthétisés dans le Tableau 1.24. Les Proteobacteria étaient l'embranchement dominant constamment, avec des abondances variables entre les sites d'étude. Puis, les Actinobacteria, Acidobacteria et Bacteroidetes étaient les autres embranchements majoritaires dans ces OGEP, deux sur trois étaient toujours positionnés à la seconde ou troisième place en termes d'abondances (une exception : les Cyanobacteria qui se retrouvent en 2^{ème} position dans la fraction agrégée dans l'article de *Badin et al., 2012*). Concernant les autres embranchements, il n'y a pas de tendance observable, les abondances varient entre les études.

Les communautés microbiennes des FPR pour le traitement des eaux de ruissellement sont donc à ce jour un type d'OGEP trop peu étudiées. En contexte d'eaux usées, plus d'auteurs s'y sont intéressés. *Sánchez (2017)* a réalisé une revue concernant la diversité bactérienne de FPR traitant essentiellement des eaux usées et l'influence de paramètres environnementaux sur cette diversité. Ils constatent la dominance permanente du phylum Proteobacteria (avec les classes Alpha-, Beta-, Gamma-, Delta- ou Epsilon-proteobacteria en proportions différentes). Puis, le phylum Bacteroidetes est généralement abondant dans les ZHA. D'autres procaryotes sont également présents dans différents types de ZHA, avec des abondances généralement faibles : Firmicutes, Actinobacteria, Acidobacteria, Planctomycetes, Chloroflexi, Sinergistetes, Deferribacteres, Nitrospirae, Cyanobacteria, Verrumicrobia ou Archaea. En comparant ces résultats aux données du Tableau 1.24, les Proteobacteria sont toujours les bactéries les plus abondantes, mais les Actinobacteria, Acidobacteria et Bacteroidetes sont les deuxièmes plus abondants en contexte pluvial contrairement au contexte d'eaux usées. *Sánchez (2017)* a également mis en évidence l'altération possible des communautés microbiennes par des facteurs environnementaux. La présence de végétation et l'espèce végétale semblent être un paramètre déterminant et la conception hydraulique du FPR semble être le second paramètre (oxygénation du système). Les autres facteurs moins déterminants à prendre en compte également sont la disponibilité en carbone organique, les variations climatiques et saisonnières (surtout de la température) et le type de substrat utilisé dans le FPR (texture sableuse vs argileuse, ajout de substrat particulier).

Tableau 1.24 : Embranchements dominants (% relatif) dans des sols ou sédiments d'ouvrages de gestion des eaux pluviales (OGEP) retrouvés dans la littérature (issus de 6 publications : Rotaru et al., 2011 ; Badin et al., 2012; Gill et al., 2017b ; Gill et al., 2020 ; Li et al., 2021 ; Geronimo et al., 2022).

| Type d'OGEP | Type d'échantillon | Types d'eaux de ruissellement | Méthode | Embranchements dominants (embranchement) (%) | Référence |
|--|--|-------------------------------------|---|--|---------------------------|
| 1 bassin d'infiltration | Sédiments : 2 carottes plus ou moins en aval du bassin, et plusieurs profondeurs | Autoroute | Extraction d'ADN, PCR et séquençage des bactéries (16S) | Proteobacteria (30-64), Actinobacteria (12-29), Bacteroidetes (1-11), Chloroflexi (2-21), Firmicutes (1-25), Autres (9-14) | Rotaru et al. 2011 |
| 1 bassin d'infiltration | Sédiments de surface : fractions agrégée et lixiviable séparées | Bassin versant urbain et industriel | Extraction d'ADN, PCR et séquençage des bactéries (V3 de 16S) | Proteobacteria (46-62), Cyanobacteria (8-32), Bacteroidetes (16-20), Nitrospirae (0-1), Gemmatimonadetes (1), Firmicutes (0-8), Actinobacteria (0-3), Acidobacteria (0-2) | Badin et al. 2012 |
| 2 types de bioswales et 4 témoins (parcs et fosses d'arbre) | Sol de surface : avant et après précipitations | Voiries urbaines | Extraction d'ADN et d'ARNr et séquençage des bactéries (V4-V5 de 16S, Illumina) | Proteobacteria (44-55), Actinobacteria (17-22), Acidobacteria (6-7), Chloroflexi (4-6), Bacteroidetes (6-7), Planctomycetes (2-4), Verrucomicrobia (2-3), Nitrospirae (2-3), Gemmatimonadetes (0,7-2,8) | Gill et al. 2017b |
| 25 fosses végétalisées, 11 toits verts et 37 témoins (fosses d'arbres et pelouses) | Sol de surface | Urbaine | Extraction d'ADN, PCR et séquençage des bactéries (V4) et champignons (ITS1) (Illumina) | Bactéries : Proteobacteria (41-46), Actinobacteria (17-21), Acidobacteria (13-15), Bacteroidetes (7), Planctomycetes (5), Verrucomicrobia (2-3), Firmicutes (2-3), Chloroflexi (3), Gemmatimonadetes (1) Champignons : Ascomycota (71-74), Basidiomycota (21-22), Mortierellomycota (3-4), Glomeromycota (0-2), Olpidiomycota (0-1), Blastocladiomycota (0-1) | Gill et al. 2020 |
| 1 noue et 2 jardins de pluie | Sol de surface : dans la zone basse d'entrée d'eau | Routes ou toitures | Extraction d'ADN, PCR et séquençage des bactéries (16S, Illumina) | Proteobacteria (42-45), Acidobacteria (12-17), Bacteroidetes (11-16), Actinobacteria (2-7), Verrucomicrobia (6-7), Chloroflexi (5-6), Gemmatimonadetes (2-6), Planctomycetes (1-2), Firmicutes (1-2), Nitrospirae (1-2), Autres (4-5) | Li et al. 2021 |
| 2 ZHA | Sable de surface : dans la zone d'entrée d'eau | Routes et parking | Extraction d'ADN, PCR et séquençage des bactéries (16S, V3-V4) | Proteobacteria (36-40), Acidobacteria (11-13), Actinobacteria (9-12), Bacteroidetes (5-12); Firmicutes (1-16), Planctomycetes (6-8), Chloroflexi (3-5), Verrucomicrobia (3), Gemmatimonadetes (1-2), Nitrospirae (1-2), Autres (6-7) | Geronimo 2022 |

III-2.3.2. Facteurs affectant les communautés microbiennes dans les ouvrages de gestion des eaux pluviales

La structure, l'abondance, l'activité ou encore la diversité des communautés microbiennes varient selon un grand nombre de paramètres. Ils sont importants à définir pour étudier la biodégradation de polluants organiques car ils affectent les communautés microbiennes et donc les vitesses de dégradation de polluants et les mécanismes associés. Le **type de sol/substrat** (ayant des paramètres physico-chimiques différents : pH, oxygène dissous, teneurs en carbone et nutriments), le **type d'ouvrage et ses propriétés hydrauliques**, la **végétation**, les **conditions environnementales** et la **pollution** du sol sont des facteurs très importants (Figure 1.13).

- Les paramètres édaphiques du sol :

La **disponibilité en nutriments** impacte les différentes communautés microbiennes du sol. En effet, selon leur disponibilité dans les sols, deux types de microorganismes peuvent exister : les bactéries oligotrophes (par exemple *Acidobacteria*) qui présentent une croissance lente permettant de s'adapter aux milieux pauvres en nutriments et les bactéries copiotrophes (par exemple *Betaproterobacteria*) qui ont des besoins nutritifs élevés et présentent un taux de croissance élevé lorsque le milieu est riche (Fierer et al., 2007). Dans les OGEP, des concentrations plus élevées en NO_3^- ont été corrélées avec une augmentation de l'occurrence de gène dénitrifiants (Zhang et al., 2016), des taux de dénitrification plus élevés et des populations de dénitrifiants plus vigoureuses et plus robustes dans les sédiments des zones humides (Sirivedhin et Gray, 2006; Bastviken et al., 2005).

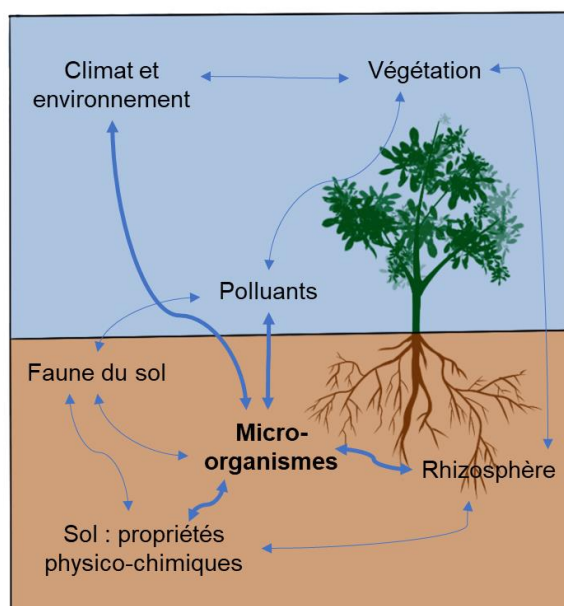


Figure 1.13 : Les différents facteurs affectant les communautés microbiennes dans les sols/substrats pollués. Les flèches en gras seront discutées dans cette partie.

La **profondeur** joue également un rôle puisque les teneurs en nutriments et en carbone organiques diminuent avec la profondeur. La profondeur induirait donc une spatialisation des communautés microbiennes dans les sols (Bourceret, 2016). L'abondance, la composition et la diversité des communautés bactériennes et fongiques varieraient donc selon les horizons du sol : l'horizon organique de surface favoriserait les embranchements impliqués dans la dégradation de la matière organique, et l'horizon minéral plus en profondeur, favoriserait les espèces oligotrophe. (Schierholz et al., 2000) ont par exemple mesuré les temps de demi-vie de l'herbicide Isoproturon dans des sols agricoles à différentes profondeurs. Le temps de demi-vie en surface était de 20 jours alors qu'il était supérieur à 100 jours à un mètre de profondeur. La biodégradation par les microorganismes est donc plus lente en profondeur en raison d'une abondance microbienne différentes de celle de surface. Enfin, Tripathi et al. (2019) ont montré des variations des communautés microbiennes avec la profondeur dans le sol. En surface, ce sont les *Proteobacteria* (Alpha et Gamma), *Acidobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Planctomycetes*, et *Cyanobacteria* qui dominent, tandis le sol plus profond est dominé par

Betaproteobacteria, *Firmicutes*, *AD3*, *Bacteroidetes*, *Caldiserica*, *OD1*, et *Chloroflexi*. Dans les ZHA traitant les eaux usées, la diversité microbienne était plus importante en surface qu'en profondeur (Fu et al., 2017). De plus, dans les ZHA, une épaisseur d'eau presque constante en profondeur va induire une sélection de communautés anaérobies en raison des conditions anoxiques provoquées par l'eau (Truu et al., 2009).

Le **pH** est un autre paramètre très important également. Il est relié à certaines caractéristiques du sol, tel que la biodisponibilité des nutriments, des ETM, la stabilité structurale du sol et le type de végétation présente (Bourceret, 2016). Les variations de pH au sein d'un sol peuvent causer des contraintes physiologiques aux microorganismes, notamment provoquer un état de stress dans le cas de pH extrêmes, ce qui favoriserait certains taxons capables de s'adapter aux dépens d'autres taxons dont la croissance est inhibée. Bien qu'il existe des bactéries extrémophiles pour le pH, la plupart croît à des pH autour de la neutralité, dans une gamme allant de 5 à 8 unités pH (Bertrand et al., 2011). En général, les bactéries sont plus sensibles aux variations de pH que les champignons (Fierer et al. 2009). En effet, ces derniers peuvent se développer à des gammes de pH plus larges que les bactéries (de 5 à 9 unités pH) sans conséquence sur leur croissance (Bertrand et al., 2011). Concernant l'activité des communautés microbiennes, Chang et al. (2007) ont montré que le pH impactait la biodégradation du 4-NP ; en effet, pour différents pH utilisés (5 ; 6 ; 7 ; 8 ; 9) le pH optimal était 7 (vitesse la plus rapide) et les vitesses de dégradation étaient bien plus faibles pour les pH 5 et 9. Un pH trop acide ou basique impacte donc les communautés microbiennes qui ont de plus grandes difficultés à biodégrader des polluants organiques. Le pH joue donc un rôle très important dans les OGEP pour le développement des communautés microbiennes et donc leurs fonctions au sein de l'ouvrage, notamment pour la dégradation de composés organiques (polluants, nutriments etc). Il peut varier selon le type d'eaux reçues, le climat, l'activité microbienne ou encore les substrats utilisés dans les OGEP (Verduzo Garibay et al., 2022).

Les **teneurs en oxygène** sont également un facteur important de la diversité microbienne. Les pores du sol fournissent des micro-habitats différents pour la vie microbienne ; il existe les micropores et les macropores, qui peuvent entraîner des différences dans les communautés microbiennes : les microorganismes vivant dans les macroporosités semblent résister à la dessiccation, mais obtiennent facilement les éléments nutritifs qui sont transportés dans le sol lors de la filtration. En revanche, les microorganismes vivant dans des microporosités semblent tolérer l'anoxie et des ressources faibles en nutriments, mais sont protégés de la prédation (Badin et al., 2012). Badin et al. (2012) ont étudié les communautés microbiennes dans la macroporosité et la microporosité. Ils ont observé que la biomasse fongique est plus abondante dans la macroporosité, mais que les bactéries sont présentes à la fois dans la macro et la microporosité. Cependant, les communautés microbiennes des micropores différaient fortement de celles présentes dans les macropores. L'oxygène dissous affecte donc les gradients d'oxydoréduction dans les OGEP également, ce qui entraîne des changements dans la distribution spatiale de la biomasse microbienne (Scholz et Lee, 2005) et de l'activité microbienne (Ruppelt et al., 2020). Cela peut entraîner des conséquences sur les polluants accumulés dans les OGEP, certains biodégradables en condition oxygène ne le sont plus en condition anoxique.

- Les conditions environnementales :

La **température** est un paramètre important modifiant les communautés microbiennes. Elle joue d'une part sur le type de microorganismes présents (psychrophiles, mésophiles ou thermophiles) mais également sur leur activité dans les sols donc sur les vitesses de dégradation. Par exemple, Chang et al. (2007) ont étudié la dégradation du 4-NP dans 2 sols selon plusieurs températures (20 ; 30 ; 40 °C) et ont montré que des températures élevées favorisaient la biodégradation (les vitesses sont presque doublées en passant de 20 à 30 °C et sont encore plus élevées à 40°C). Cheng et al. (2018) ont également montré cet effet avec du DBP (un phtalate) où les vitesses de dégradation étaient également positivement impactées par la température. Rasche et al. (2011) ont réalisé un suivi de 2 ans de la diversité bactérienne dans un sol forestier en condition tempérée ; ils ont montré que les variations de température et d'humidité faisaient varier les ressources en azote et en carbone, entraînant ainsi une adaptation des *Acidobacteria* (dont l'abondance variait avec les variations nutritives). Enfin, Wang et al. (2023) ont étudié les communautés microbiennes et les activités enzymatiques dans les sols rhizosphériques d'une ZHA traitant des eaux usées, lors de la diminution des températures en hiver.

Cette étude a montré que température était le principal facteur de changement des communautés microbiennes dans l'ouvrage, plus que la présence et le type de plante. En effet, à partir de 4,83 °C, les activités enzymatiques changeaient soudainement, avec une diminution de l'activité nitrite réductase, une augmentation de l'activité phosphatase, et la cellulase et l'uréase étaient peu influencés par les faibles températures. Concernant les communautés microbiennes, la baisse de température a significativement diminué la diversité alpha (contrairement au type de plante) et la proportion de Proteobacteria augmentait significativement avec la diminution des températures. Pour le stress dû au froid, les micro-organismes liés à l'azote étaient des espèces sensibles, tandis que les micro-organismes liés au phosphore étaient des espèces opportunistes. Finalement, l'abondance microbienne tend à diminuer de l'été à l'hiver (Wang et Li 2015), avec par exemple une corrélation positive des Proteobacteria avec la température, avec plus d'abondance en été qu'en hiver (Jia et al. 2017). Ainsi, les performances épuratoires des OGEP sont généralement meilleures en été qu'en hiver.

- Le type d'ouvrage et les eaux reçues :

Certaines études ont révélé que les communautés microbiennes se développant dans les OGEP seront différentes selon le **type** d'ouvrage. Pour les ZHA, le régime hydraulique va conditionner la structure de l'OGEP. L'impact du design des ouvrages a surtout été étudié au niveau des communautés jouant un rôle dans le cycle de l'azote. Les ZHA à écoulement vertical montrent des efficacités d'élimination de l'ammoniac mais très peu de dénitrification tandis que celles à écoulement horizontal montraient la tendance inverse (Vymazal 2007). Cela est lié au système hydraulique, partiellement saturé dans les ZHA à flux vertical et saturé dans celles à flux horizontal. Deeb et al. (2018) ont étudié les potentiels de dénitrification, la biomasse microbienne, les potentiels de minéralisation et nitrification de l'azote ainsi que la respiration microbienne dans différents OGEP. Ils ont montré que le design des ouvrages avait un impact sur les densités et activités microbiennes, avec les fosses d'arbre ayant les plus fortes valeurs par rapport aux rigoles d'infiltration et rigoles végétalisées. Une corrélation négative a été montrée entre la surface de l'ouvrage et la biomasse microbienne, mais aucune corrélation avec la respiration et la minéralisation et nitrification nettes. L'activité microbienne était la plus élevée dans les fosses d'arbres, suivi des rigoles d'infiltration puis rigoles végétalisées. Ainsi, ils ont montré que les processus biogéochimiques étaient fortement influencés par les designs des ouvrages de gestion des eaux pluviales., mais que les comportements biologiques étaient similaires aux sols présents dans des zones naturelles ou semi-naturelle, ce qui est encourageant.

La **fréquence d'humidification et de séchage** de l'OGEP va avoir un impact également sur les communautés microbiennes. Foulquier et al. (2013) ont rapporté que la structure des communautés bactériennes sous des cycles sec-humide diffère de celles trouvées dans des conditions d'inondation permanente. Le temps de rétention, un paramètre important dans la conception des ZHA, affecte la structure, la composition et l'abondance de la communauté microbienne (Toet et al., 2005 ; Faulwetter et al., 2009). Pendant les événements pluvieux, plus d'eaux alimentent l'ouvrage, ce qui introduit de nouveaux microorganismes, par l'apport de communautés extérieures, mais également par les changements d'humidité et de teneurs en oxygène (Sundberg et al., 2007). Alors que les conditions de séchage et d'humidification provoquent des stress physiologiques immédiats pour les microorganismes, les cycles répétés de sécheresse et d'humidité peuvent avoir des effets à long terme au niveau de la communauté par la sélection de taxons (Mikha et al., 2005 ; Xiang et al., 2008). Enfin, Truu et al., 2009 ont montré que les conditions de sécheresse dans les ZHA sont associées à des faibles teneurs disponibles en nutriments, ce qui induit des activités microbiennes plus faibles.

Des **substrats** peuvent être ajoutés dans les OGEP afin d'améliorer la rétention des polluants ou bien car il s'agit d'un ouvrage construit de A à Z (pas de sol donc). Guan et al. (2015) et Khalifa et al., (2020) ont montré que la nature et composition du substrat avait un impact significatif sur les communautés microbiennes. De nombreux substrats différents ont été insérés dans des ZHA : sédiments marins, minéraux, roches volcaniques, biochar, zéolite, kaolinite etc (Tatoulis et al., 2017). Leurs propriétés physico-chimiques intrinsèques très différentes selon le matériau vont donc impacter les communautés microbiennes présentes (Fu et al., 2020).

Le **type d'eau reçu** par l'ouvrage joue également un rôle (eaux usées, eaux de ruissellement, eaux de décharges, eaux de nappe etc) dans la structuration des communautés microbiennes. Gilbert et al. (2012) ont montré que parmi de nombreux sites étudiés, ceux captant les mêmes types d'eau avaient

des communautés microbiennes similaires. Dans le cas des eaux de ruissellement, le type de bassin versant drainé peut également impacter les communautés microbiennes. Un cas particulier est les eaux enrichies en sel (sel de déglçage pendant l'hiver) ; cela affecte la végétation présente ainsi que les microorganismes et peut in fine réduire l'efficacité épuratoire de l'ouvrage (*Flanagan et al., 2018 ; Wang et al., 2020*).

- La végétation :

L'apport de **végétation** à la surface des sols modifie également les communautés microbiennes en raison d'un apport de nutriments, de sources de carbone et d'oxygène notamment grâce aux racines qui forment la rhizosphère. Cela a été largement détaillé dans le paragraphe III-1.2.

- La pollution des sols :

La **contamination chimique** des sols est un stress supplémentaire pour les communautés microbiennes. Deux phénomènes peuvent avoir lieu : une contamination chronique à long terme, et une contamination ponctuelle à court terme. Ces deux phénomènes ne mettent pas en œuvre les mêmes réponses adaptatives chez les microorganismes du sol. Une notion importante a été utilisée afin de caractériser la réponse des communautés microbiennes aux stress environnementaux : la **résilience**. Il s'agit de la capacité d'un écosystème à se développer en modifiant son fonctionnement pour répondre à un stress puis à retrouver au cours du temps un fonctionnement proche de celui précédant le stress (*Bertrand et al., 2011*). Une autre notion est importante : la **résistance**. Il s'agit de la capacité d'un système à résister à une perturbation (*Griffiths et Philippot, 2013*). Ces deux concepts permettent de déterminer la **stabilité** microbienne d'un sol.

Globalement, à court terme, la pollution (organique ou métallique) d'un sol provoque une diminution de la diversité et de la richesse microbienne. La toxicité des polluants entraîne une modification de la proportion des populations sensibles et résistantes à cette pollution (*Giller et al., 2009*). Le type de polluant, sa concentration, sa spéciation, sa biodisponibilité et la présence d'un mélange de polluants vont provoquer des conséquences différentes sur ces populations. La présence d'un mélange de polluant provoque en général de répercussions plus importantes sur les communautés microbiennes, on parle de « l'effet cocktail » (*Bourceret, 2016*). A plus long terme, la toxicité de l'environnement induit au sein de l'écosystème une sélection des populations tolérantes à la pollution et potentiellement capables de dégrader les pollutions lorsqu'elles sont organiques (*Yang et al., 2014*), ou de transformer/modifier les pollutions lorsqu'elles sont métalliques (*Poirel et al., 2013*).

Certains auteurs ont étudié l'impact de polluants sur les communautés microbiennes. *Mattana et al. (2019)* ont étudié l'effet de concentrations croissantes en 4-NP (0 ; 10 ; 30 ; 90 ; 270 mg/kg) sur la structure et les fonctions des communautés microbiennes. Ils ont montré que la structure des communautés bactériennes à la concentration la plus élevée de 4-NP était fortement impactée (résistance pour les concentrations inférieures à 90 mg/kg), et pour les communautés fongiques la structure était de plus en plus impactée avec l'augmentation des concentrations. Ainsi, aucune résilience de la structure des communautés bactériennes n'a été trouvée chez les bactéries à la plus forte concentration, et pour toutes les concentrations pour les communautés fongiques. *Tong et al. (2021)* ont montré que l'ajout de polluants (BPA) changeait les communautés microbiennes, avec une augmentation de genres capable de dégrader ce polluant (*Pseudomonas, Lutibacter*) mais également qu'une corrélation négative existait entre le BPA et la diversité et richesse des communautés microbiennes, avec de plus en plus d'impacts lorsque les teneurs augmentaient. En termes d'activité, une diminution de l'activité (enzymes et microplaques BIOLOG) et de l'abondance microbienne au cours terme dans des sols recevant des eaux usées contaminées, suivi d'une plus forte augmentation qu'initialement a été observée par plusieurs auteurs (*Mkhinini et al., 2020 ; Chazarenc et al., 2010*). Cela indiquait que l'apport de nutriments et matières organiques stimulait au long terme les communautés microbiennes.

Pour conclure, l'impact de ces paramètres a surtout été étudié dans des FPR pour le traitement des eaux usées, ou alors dans des OGEP autres que les FPR. Les communautés microbiennes ont une évolution fortement liée aux paramètres autour d'elles, avec des interactions complexes entre l'eau reçue, les substrats/sols utilisés, la végétation et l'environnement où est placé l'ouvrage.

III-2.3.3. Action des microorganismes dans les filtres plantés de roseaux

Nous avons vu au début de cette partie que les microorganismes fournissent de nombreuses fonctions dans les sols. Ils jouent également un rôle très important dans les FPR, ainsi, leur étude est indispensable. Les fonctions principales recherchées dans les OGEP sont (Skorobogatov et al., 2020 ; Bai et al., 2014 ; Y. Li et al., 2021 ; Faulwetter et al., 2009) :

- **Métabolisation des composés organiques** : Biodégradation des polluants organiques.
- **Participation aux cycles biogéochimiques** : cycle du carbone, azote, phosphore : élimination de l'azote, phosphore et composés carbonés
- **Modification de la spéciation des métaux et polluants organiques** : changement de l'environnement par les microorganismes ayant pour conséquence la diminution ou l'augmentation de la biodisponibilité d'une molécule. Par exemple : modification du pH.
- **Formation de biofilm et mycélium** : participation à la structuration du sol ayant pour conséquence l'augmentation de la cohésion du sol.
- **Promotion de la croissance des plantes** : influe sur les cycles des nutriments et l'effet rhizosphérique.

La **biodégradation** des composés organiques et la **modification de la spéciation** des composés organiques et métalliques sont deux fonctions assurées par les microorganismes qui sont très importantes pour la gestion de la pollution des eaux pluviales. Dans le premier cas, cela permet de diminuer les teneurs en polluants organiques dans les sols donc de limiter le risque de toxicité. Dans le second cas, le changement de spéciation peut favoriser la rétention du composé dans l'ouvrage, permettant de diminuer les concentrations dans les eaux de ruissellement, mais à l'inverse, cela peut également favoriser sa libération et donc se retrouver en aval de l'ouvrage (on perd alors l'utilité de l'ouvrage). Le changement de spéciation des ETM peut également dans certains cas réduire leur toxicité et diminuer leur concentration (exemple de la réduction du mercure et sa volatilisation en condition aérobie). Dans la suite de cette synthèse bibliographique, seul le mécanisme de biodégradation sera développé, puisqu'il sera étudié au cours de cette thèse.

III-2.4. *Biodégradation des micropolluants organiques émergents par les communautés microbiennes*

III-2.4.1. Introduction à la biodégradation

Les polluants organiques retenus dans les sols peuvent servir de source de carbone et d'énergie pour les microorganismes présents, qui peuvent alors les consommer et produire de la biomasse microbienne.

La dégradation est la transformation d'un composé au travers de modification de sa structure moléculaire. La **biodégradation** est la dégradation d'un composé (dont la structure chimique est constituée d'agencements organiques facilement dégradables) par les organismes vivants (bactéries, champignons, algues ou encore plantes) (Agterén et al., 1998). Cette dégradation est ubiquiste sur terre : dans l'eau, le sol, l'air, les tissus etc. Dans cette partie, nous nous concentrerons sur la dégradation de **composés organiques** par les microorganismes du **sol**. En effet, seuls les composés organiques ont un comportement non conservatif (destructif), contrairement aux ETM qui ne peuvent pas être dégradés. Un composé organique est alors dit **biodégradable** s'il peut être dégradé par voie biologique ou encore transformé en composés intermédiaires au cours du temps (Girard et al. 2011). Sinon, il peut être **persistant** (biodégradation réalisée dans un ensemble spécifique de conditions) ou encore **récalcitrant** (résistance inhérente d'un composé à tout degré de biodégradation) (Agterén et al., 1998).

Plusieurs types de biodégradation par les microorganismes existent. Tout d'abord, la **biodégradation directe** a lieu lorsque le polluant est utilisé comme source de carbone par les microorganismes permettant leur croissance ; le composé organique est directement biodégradé au travers d'enzymes pour récupérer l'énergie. Il y a également le **cométabolisme**, lorsque le composé est dégradé par des enzymes dégradant des composés analogues, sans qu'il soit utilisé comme source

d'énergie ou de carbone (*Girard et al. 2011 ; Agteren et al., 1998*). Il se produit car certaines enzymes microbiennes ont une large gamme de substrats et convertissent fortuitement divers polluants organiques en plus de leur substrat nature. Les microorganismes le dégradant n'ont pas forcément de bénéfice à dégrader le polluant, mais cela peut profiter à d'autres. Finalement, une biodégradation **indirecte** peut s'opérer dans les sols par le changement des conditions du sol par les microorganismes. Par exemple, un changement de pH par l'activité microbienne peut provoquer des hydrolyses de certains composés.

La biodégradation peut avoir lieu en conditions **aérobies** ou **anaérobies**, impliquant alors des communautés microbiennes différentes (*Girard et al. 2011*). En condition oxygène, les microorganismes aérobies vont tirer de l'énergie à partir de l'oxydation du composé organique, l'oxygène étant l'accepteur final d'électrons. De nombreux contaminants organiques sont biodégradables en conditions oxygènes, cette condition sera plus détaillée par la suite. En condition anoxique, l'oxygène ne sera pas l'accepteur d'électron final, mais d'autres ions et substances (fer, manganèse, sulfates, nitrates, dioxyde de carbone etc). En anaérobiose l'accepteur d'électrons peut être une molécule organique. Le processus énergétique développé dans ce cas est une fermentation (*Agteren et al., 1998*).

La biodégradation d'un composé passe généralement par la formation de composés intermédiaires, appelés **métabolites** (produit de transformation). Ces composés peuvent être autant voire plus toxiques que la molécule mère, ainsi, leur étude est tout aussi importante en raison d'une possible accumulation de métabolites avec le temps (*European Commission, 2020*). Une fois les métabolites également dégradés, on parle alors de biodégradation **ultime** ou **minéralisation** (passage de carbone organique à inorganique par la libération de CO₂ via les microorganismes). Il s'agit donc d'un processus permettant l'élimination complète d'un composé. Cependant, dans les sols, les interactions fortes avec la matière organique peuvent induire des processus de forte sorption, rendant alors une partie du composé non biodisponible aux microorganismes, on parle alors de la **fraction résiduelle** (*Girard et al., 2011 ; Dodgen et al., 2014*). Ou bien, le métabolite produit étant trop toxique ou peu biodégradable, la biodégradation ultime peut ne jamais avoir lieu. Ainsi, la dégradation est généralement incomplète dans les sols, en raison de la nature des composés, de leur disponibilité, de la capacité des microorganismes à les dégrader et des conditions du milieu (sol et environnement autour).

L'étude de la biodégradation de composés organiques se fait par l'étude de leurs **cinétiques**, c'est-à-dire sur l'évolution des teneurs du composé dans un volume de sol dans le temps (*Boesten et al., 2014*). Ces cinétiques peuvent être réalisées **sur le terrain** directement, mais de nombreux paramètres ne peuvent pas être maîtrisés, rendant l'évaluation de la biodégradation complexe. Les études in situ parlent alors plutôt de dissipation du composé. C'est pourquoi, l'étude de la biodégradation est souvent réalisée **au laboratoire en conditions contrôlées**, en milieu liquide ou solide, plus ou moins représentatives de la réalité du terrain. L'étude des cinétiques permet d'obtenir des renseignements sur la **vitesse** de dégradation du composé organique, ainsi que sur sa **persistance** au travers de la **durée de demi-vie** (DT50), soit le temps nécessaire pour réduire de moitié une quantité initiale donnée (*Boesten et al. 2014*). Pour cela, de nombreux modèles de cinétique existent, après la sélection, l'ajustement et la validation du modèle, les vitesses et DT50 peuvent alors être calculés. Ces différents modèles seront détaillés dans le Chapitre 2 (matériel et méthodes).

Il est important de bien séparer trois termes qui sont régulièrement utilisés comme synonymes alors qu'ils sont bien distincts : dégradation, biodégradation et minéralisation. La biodégradation correspond à la part biotique de la dégradation, tandis que la minéralisation correspond à la dernière étape de la biodégradation, lorsque les composés organiques sont libérés sous forme minérale.

La suite de ce chapitre s'intéressera à la (bio)dégradation des MPO émergents étudiés dans cette thèse, au travers de la description de leurs mécanismes de dégradation, des vitesses mesurées dans les sols et des microorganismes ayant la capacité de les dégrader.

III-2.4.2. (Bio)dégradation des Alkylphénols

Sous conditions oxygènes, les AP persistent peu dans l'environnement en raison de leur rapide dégradabilité (Jonkers et al., 2001 ; Zhao et al., 2006). La dégradation des APnEO (nonyl et octylphénols), observée dans différentes matrices environnementales (eau, sol, sédiment, boues etc), conduit à la formation de métabolites, le 4-nonylphénol (4-NP) ou le 4-octylphénol (4-OP), qui sont plus toxiques que leur molécule mère (Soares et al., 2008). De nombreux microorganismes capables de dégrader les AP dans des matrices solides (sols, sédiments, boues) ont été rapportés par nombreux auteurs. Les **bactéries** ont été cités par Soares et al. (2003), Yuan et al. (2004), Chang et al. (2005), Chang et al. (2007), Chang et al. (2008), De Weert et al (2009), Toyama et al. (2011), Watanabe et al. (2012), Huang et al. (2014), Wang et al. (2014), Zheng et al. (2018) et Chang et al. (2020) et les **champignons** par Soares et al. (2005), Corvini et al. (2006), Giger et al. (2009), Moon et Song (2012) et Yang et al. (2018). Bien que les AP soient fortement retenus dans les sols en raison de leurs propriétés d'adsorption (cf. I-7.2), leur biodégradation reste un processus important d'élimination. Dans les sols d'OGEP, la plupart des AP retrouvés sont les métabolites (4-NP, 4-OP) car les molécules mères sont généralement dégradées dans les eaux avant que celles-ci alimentent les sols (Flanagan et al., 2019b).

(a) Voies de biodégradation des alkylphénols

La biodégradation des nonylphénols éthoxylés (NPnEO) dans l'environnement a été la plus étudiée ; elle se déroule en deux grandes étapes : la biodégradation primaire (transformation de la molécule mère en produits intermédiaires jusqu'au 4-NP) et la biodégradation ultime (minéralisation complète du 4-NP en CO₂, H₂O...), les deux étapes étant possibles grâce aux microorganismes.

Biodégradation primaire : AEROBIE OU ANAEROBIE

Lors de la biodégradation primaire, deux processus peuvent avoir lieu : les biodégradations « oxydative » et « non oxydative ».

La voie **non oxydative** a été décrite par John et White (1998) en laboratoire, dans un milieu de sels basaux stériles, avec du NPnEO comme source de carbone. Elle peut avoir lieu en présence ou en absence d'oxygène. Cette voie consiste en une dégradation de la chaîne éthoxylée provoquant des raccourcissements successifs d'une unité de la chaîne et la formation de molécules d'acétaldéhyde à chaque raccourcissement (passage de NP_nEO à NP_{n-1}EO) (Figure 1.14). Cette étape a lieu jusqu'à obtenir 1 ou 2 unités éthoxylées (NP₁EO et NP₂EO), puis du 4-NP peut finalement s'obtenir (Kolvenbach et al., 2012), le produit final de la biodégradation primaire dite non oxydative.

La voie **oxydative** a été décrite par Jonkers et al. (2001) en laboratoire, en milieu liquide (eau douce). Cette voie consiste en une rapide oxydation de la chaîne éthoxylée, qui transforme ainsi les NPnEO en acides alkylphénoxy polyéthoxy acétiques (NP_nEC). Les NP_nEC subissent ensuite un raccourcissement de la chaîne éthoxylée par biodégradation pour aboutir à des NP₂EC, NP₁EC. Enfin, Montgomery-Brown et al. (2008) ont observé que l'étape ultime de la biodégradation du NP₁EC dépend de l'abondance d'oxygène du milieu ; en zone fortement oxygénée, il se dégrade exclusivement en 4-NP tandis qu'en milieu micro-oxygéné, les produits finaux sont les CAPnEC.

Ces deux voies peuvent se dérouler en même temps en condition aérobie, mais la voie oxydative dominera (Jonkers et al., 2001). Cette dernière a été décrite en laboratoire dans les eaux douces, les estuaires et les sols (Jonkers et al., 2005). La voie non oxydative est la seule voie possible en conditions anaérobies ; elle a été décrite en laboratoire dans les eaux marines, dans les estuaires et dans sédiments.

Biodégradation ultime : AEROBIE

Puis, la biodégradation ultime correspond à la biodégradation des produits finaux de la première étape afin d'obtenir des molécules de CO₂, H₂O, molécules finales d'une dégradation microbienne. Pour cela, des microorganismes dégradent ces métabolites, mais seulement si le taux d'oxygène est suffisant (Zheng et al., 2018). La biodégradation du 4-NP est étudiée par la suite. Corvini et al. (2006) ont déterminé les voies de biodégradation du 4-NP par des microorganismes ; elles aboutissent toutes au clivage entre le cycle phénol et la chaîne alkyle pour donner une chaîne alcool (généralement ramifiée) et une hydroquinone (Figure 1.14), cette dernière est ensuite dégradée par clivage du cycle benzénique. La minéralisation totale peut finalement être réalisée. Cependant, le 4-NP reste souvent le produit final

de la dégradation ; il ne subit pas de minéralisation complète, non pas à cause d'une mauvaise activité microbienne, mais en raison de la forte sorption du 4-NP sur les particules organiques solides (Koc très élevé). C'est ainsi que la principale source de 4-NP dans l'environnement n'est pas sa production industrielle mais celle due à la dégradation des NPnEO (Bergé et al., 2012).

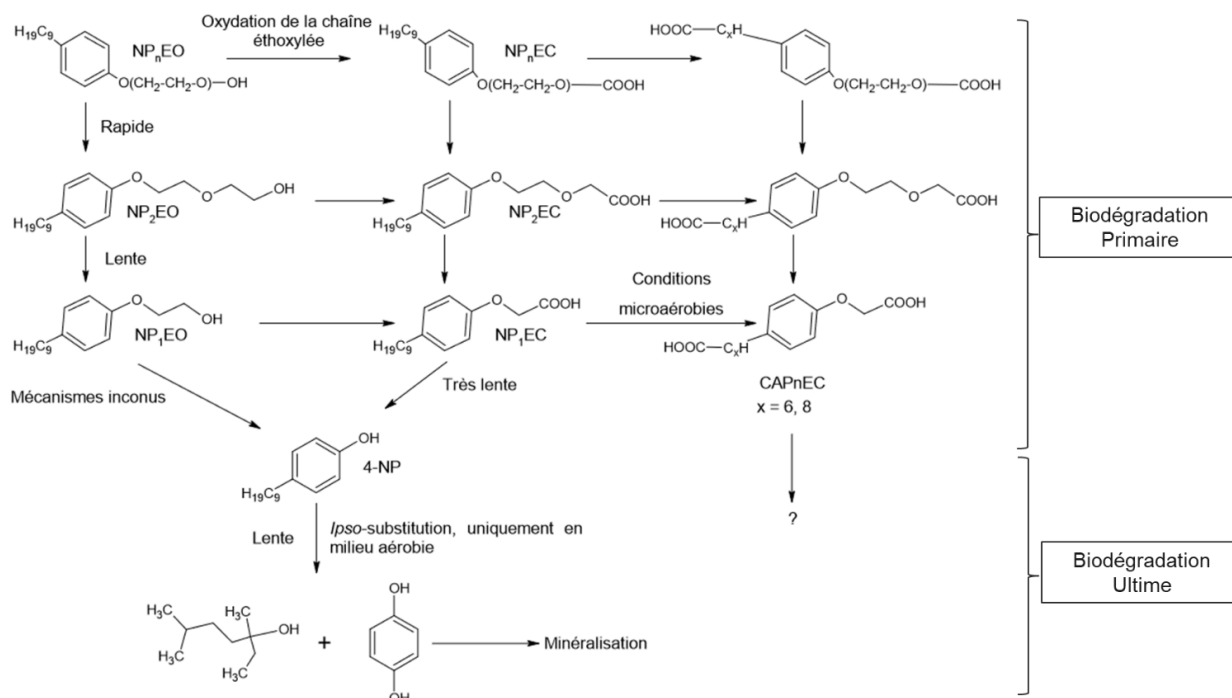


Figure 1.14 : Les différentes étapes de biodégradation des alkylphénols éthoxylés (d'après Giger et al., 2009).

(b) Dégradation dans les sols :

Le devenir des AP une fois retenu dans des sols a été documenté, mais celui dans les OGEP n'a pas encore été étudié. La dégradation des AP dans des sols en conditions aérobie est développée par la suite, avec un focus sur le 4-NP et 4-OP en raison de la faible présence des APnEO dans les sols d'OGEP.

Le Tableau 1.25 résume les différentes références disponibles concernant la (bio)dégradation d'AP (4-NP, 4-OP, NPnEO) dans des sols. Les essais de dégradation consistent en des micro ou mésocosmes contenant du sol enrichi en AP ou en ¹⁴C-AP (par ajout de boues, sols ou solutions contaminés) dont les teneurs dans les sols sont suivies dans le temps. Des témoins stériles sont mis en place ou non, ce qui permet d'étudier la biodégradation ou à l'inverse, la dégradation. Ces études ont surtout porté sur des sols agricoles recevant des boues contaminées issues de stations de traitement des eaux usées. Le 4-NP est l'alkylphénol le plus étudié (présent dans 12 études sur 13), avec des teneurs expérimentales dans les sols allant de 0,053 à 300 mg/kg (moyenne de 70,9 mg NP/kg). Les temps d'incubation varient également, allant de 16 à 224 jours (moyenne de 77 jours). Le Tableau 1.25 révèle également l'hétérogénéité des protocoles utilisés pour étudier la dégradation des AP.

La grande majorité des études a utilisé la cinétique de premier ordre pour modéliser la dégradation des AP. L'utilisation de cette cinétique peut parfois être une simplification du processus de dégradation. La dégradation peut souvent être décrite par plusieurs phases de dégradation ayant des vitesses différentes (dégradation biphasique). Lors de la première phase, la dégradation est rapide, puis lors de la seconde, elle est lente voire égale à zéro (Sjöström et al., 2008). Sjöström et al. (2008) et Langdon et al. (2011) ont notamment décrit la dégradation à l'aide d'un modèle biphasique et Langdon et al. (2011) ont comparé les temps de demi-vie selon l'équation utilisée. Dans le cas du 4-NP, ils ont montré que le modèle biphasique expliquait significativement mieux les données que le modèle de premier ordre (R² de 0,62 à 0,68 pour le premier ordre contre 0,78 et 0,73 pour le biphasique), conduisant à des DT50 différents selon le modèle (plus courts avec le biphasique). Il est donc important de ne pas aller

au plus simple pour la modélisation de la dégradation, mais de vérifier les différentes équations pour voir celle qui correspond le mieux au jeu de données.

Concernant la dégradation du **4-NP**, la majorité des études présentées a utilisé des teneurs en 4-NP dans les sols inférieures à 50 mg/kg. Si toutes les références sont comparées, il n'y a pas d'impact de la concentration sur le DT50 (Figure 1.15A). Cependant, pour l'ensemble des études ayant utilisé des teneurs supérieures à 50mg/kg, une tendance s'observe de l'augmentation du DT50 avec la teneur en 4-NP (R^2 de 0,91, Figure 1.15B). Pour toutes les teneurs utilisées dans les publications sans utilisation de $^{14}\text{C-NP}$, le temps de demi-vie moyen est de **12,3 jours**, avec un minimum à 4,6 et un maximum à 25 jours (Tableau 1.29) (Ying et Kookana, 2005 ; Hseu 2006 ; Shibata et al., 2006 ; Chang 2007 ; Sjöström et al., 2008 ; Brown et al., 2009 ; Langdon et al., 2011 ; Li et al., 2013 ; Kuzikova et al., 2019). En général, le 4-NP contient différents monomères en mélange, ce qui va avoir pour impact des vitesses de dégradation différentes (liées à la structure de la molécule : lorsqu'elle est ramifiée, la dégradation est plus faible que lorsqu'elle est linéaire). Malgré cela, une faible quantité de 4-NP persiste généralement après 45 jours dans les sols (Ying et Kookana, 2005 ; Hseu, 2006; Chang, et al., 2007b ; Sjöström et al., 2008 ; Brown et al., 2009 ; Langdon et al., 2011 ; Mao et al., 2012).

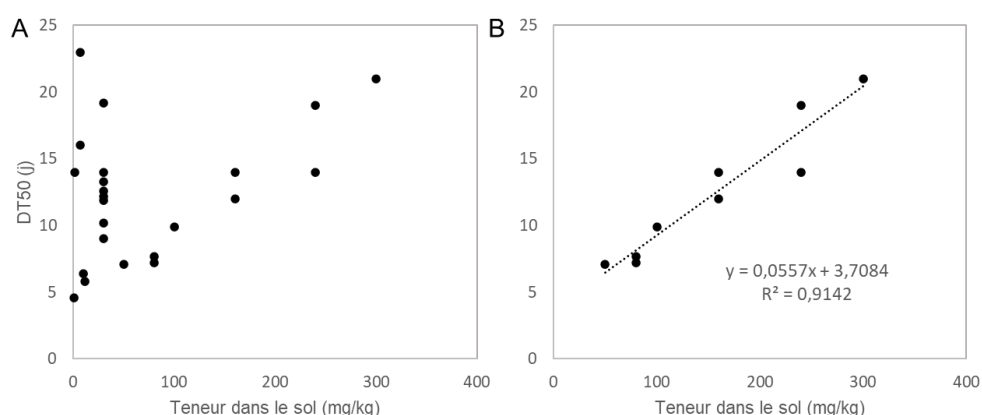


Figure 1.15 : Relation entre les valeurs de DT50 mesurées et les teneurs utilisées dans les études, en sélectionnant toutes les références (A) ou pour celles ayant utilisé des teneurs supérieures à 50 mg/kg (B). (Ying et Kookana, 2005 ; Hseu 2006 ; Shibata et al., 2006 ; Chang 2007 ; Sjöström et al., 2008 ; Brown et al., 2009 ; Langdon et al., 2011 ; Li et al., 2013 ; Kuzikova et al., 2019).

L'étude de la dégradation du 4-NP à l'aide de radio-marqueur ($^{14}\text{C-NP}$) est intéressante pour comprendre sa répartition et son devenir dans le sol. Pour cela, les auteurs séparent analytiquement la fraction minéralisée, la fraction extractible et la fraction non extractible. Cette dernière est définie comme étant la fraction « des résidus non extractibles d'un composé organique restant dans le sol après une extraction séquentielle exhaustive à l'aide de solvants organiques » (Fent et al., 2003). Il s'agit donc de résidus liés dans les sols par la formation de liaisons stables avec des substances organiques rendant le composé très peu biodisponible. Dodgen et al., (2014) ont montré que la fraction résiduelle du 4-NP étaient la fraction la plus importante pour plusieurs sols agricoles parmi les trois fractions : 35 à 46 % du 4-NP était présent sous cette forme après 112 jours d'incubation. La fraction extractible a diminué avec le temps tandis que la fraction minéralisée a augmentée ; le sol stérile n'ayant pas présenté de diminution du résidu extractible, la biodégradation a été réalisée sur le 4-NP présent dans la fraction extractible. Cependant, la minéralisation n'a pas été le processus dominant (autour de 10 %) dans les sols. De leur côté, Liu et al., (2014) ($^{14}\text{C-4-NP}$) ont également montré que la formation de résidus liés était le mécanisme principal d'élimination du $^{14}\text{C-4-NP}$ dans un sol de rizière. Au bout de 49 jours, 61 % du $^{14}\text{C-4-NP}$ était dans ce résidu. Sans microorganisme, la formation de résidus liés est inhibée (<10 %) ce qui montre l'importance des microorganismes dans sa formation. Le temps de demi-vie moyen de minéralisation du $^{14}\text{C-NP}$ dans les sols est de 12.4 jours (Topp et Starratt, 2000 ; Liu et al. 2014) ce qui se rapproche des valeurs obtenues sans utilisation de radio-marqueur.

Tableau 1.25 : Biodégradation aérobie des alkylphénols dans les sols ou sédiments, plantés ou non selon 13 publications (Toyama et al., 2011 ; Ying et Kookana, 2005 ; Hseu, 2006 ; Shibata et al., 2006 ; Chang et al., 2007 ; Sjöström et al., 2008 ; Brown et al., 2009 ; Langdon et al., 2011 ; Li et al., 2013 ; Kuzikova et al., 2019 ; Topp et Starratt, 2000 ; Dodgen et al., 2014 ; Liu et al., 2014). La méthodologie, les temps de demi-vie (DT50) et constantes de dégradation (k) obtenus sont fournis. (a) : non fourni dans l'article mais obtenu par le calcul à partir du DT50. STEP : Station d'épuration des eaux usées.

| | Site d'étude | Polluant étudié | Méthode | Teneurs T0 (mg/kg) | Temps incubation (j) | DT50 (j) | k (j-1) | Equation de cinétique utilisée | Référence |
|----------|--|-----------------------------------|--|---|----------------------|---|---|---------------------------------|---------------------------------|
| Sol + AP | Etang planté de <i>P. australis</i> : Sédiment planté ou non | NP (mélange d'isomères ramifiés) | Mésocosmes (100 g sédiment) avec ajout de NP. Conditions : planté, non planté et stérile | 25 | 42 | Non planté : 9,2 % de dégradation Planté : 52,7 % dégradé Stérile : 17,5 % dégradé | | Pas de cinétique réalisée | Toyama et al., 2011 |
| | 4 sols agricoles recevant des eaux usées | 4-OP, 4-NP | Microcosmes (5 g sol) avec chaque polluant seul Avec témoin stérile | 1 | 70 | 4-OP : 5 4-NP : 4,6 | 4-OP : 0,139 (a) 4-NP : 0,151 (a) | 1er ordre | Ying et Kookana, 2005 |
| | 2 sols agricoles différents et boues de STEP | 4-NP | Mésocosmes (10 kg sol) avec ajout de 4-NP. Conditions : sol seul, sol + boues (80, 160 ou 240 mg/kg de 4-NP) Sans témoin stérile | 80, 160 et 240 | 120 | 80 ppm : 7,2-7,7 160 ppm : 12-14 240 ppm : 14-19 | 80 ppm : 0,096-0,090 160 ppm : 0,058- 0,049 240 ppm : 0,048-0,035 | 1er ordre | Hseu et al., 2006 |
| | 7 sols de rizière | 4-OP | Microcosmes (30 g sol) avec ajout de 4-OP. Avec témoin stérile | 30 | 16 | 9,0-19,3 | 0,077-0,036 | 1er ordre | Shibata et Katayama 2006 |
| | 2 sols | NP (mélange d'isomères) | Microcosmes (5 g sol) avec ajout de NP. Conditions : 5 pH, 3 températures, 3 teneurs en NP (10, 50, 100 mg/kg). Avec témoin stérile | 50 | 35 | pH 7 - 20, 30 ou 40°C : 12,8, 7,1 et 5,6 30°C - pH 6, 7, 8 ou 9 : 8,7, 7,1, 8,3 et 10,8 30°C, pH 7 - 10, 50 ou 100 ppm : 6,4, 7,1 et 9,9 | 1er ordre | Chang et al., 2007 | |
| | 4 sols différents et boues de STEP | NP12EO et NP (mélange d'isomères) | Microcosmes sol + boues contaminées. Sans témoin stérile | 210 (NP) ou 210 (NP12) + 20 (NP) | 105 | NP 1ère phase : 7 à 20 ; NP 2ème phase : 49 NP12 1ère : 0,3 à 5 ; NP12 2ème : 11 à 48 | NP 1ère phase : 0,035 à 0,103 ; NP 2ème phase : 0,0143 NP12 1ère : 0,134 à 2,5 ; NP12 2ème : 0,014 à 0,077 | Biphasique : exponentiel double | Sjöström et al., 2008 |
| | Sol agricole et boues de STEP | NP (mélange d'isomères) | Colonnes (16 g de sol avec boue et 41 g de sol sans). Conditions : plantées ou non de blé. Témoins sans boue | 7 | 45 | Planté : 16 Non planté : 23 | Planté : 0,043 Non planté : 0,030 | 1er ordre | Brown et al., 2009 |

Tableau 25 (Suite).

| | Site d'étude | Polluant étudié | Méthode | Teneurs T0 (mg/kg) | Temps incubation (j) | DT50 (j) | Constante de dégradation k (j-1) | Equation de cinétique utilisée | Référence |
|--------------------------|--|-------------------------------|--|--|----------------------|---|---|--------------------------------|------------------------|
| Sol + AP | Sol agricole et 2 types de boues de STEP | 4-NP, 4-OP | Mésocosmes (50 g sol) avec ajout d'une ou de l'autre boue contaminée. Sans témoin stérile | 4-NP : 11,8 et 1,69 4-OP : 0,073 et 0,129 | 224 | NP 1er ordre : 12-25 NP biphasique : 5,8-14 OP 1er ordre : 10-14 OP biphasique : 8,7-9,9 | NP 1er ordre : 0,058-0,028 NP biphasique : 0,12-0,049 OP 1er ordre : 0,069-0,049 OP biphasique : 0,080-0,070 | 1er ordre et biphasique | Langdon et al., 2011 |
| | Sol de surface servant de recharge d'eaux souterraines à partir d'eaux usées | NP (mélange d'isomères) (BPA) | Mésocosmes (40 g sol) avec solutions de polluants différentes : polluant seul, polluant en mélange | Seul : 0,5 NP + BPA : 0,5 + 2,5 | 20 | Seul : 2,7 Mélange : 5,8 | Seul : 0,261 Mélange : 0,123 | 1er ordre | Li et al., 2013 |
| | Sol agricole | NP (mélange d'isomères) | Microcosmes, sol mélangé à sable contaminé en NP. Avec témoin stérile | 30 et 300 | 90 | 30 ppm : 14 300 ppm : 21 | 30 ppm : 0,041 300 ppm : 0,031 | 1er ordre | Kuzikova et al., 2019 |
| | - | - | - | - | - | 4-NP : 4,6-23 4-OP : 5-19,3 | 4-NP : 0,151-0,028 4-OP : 0,139 -0,036 | - | Synthèse (min-max) |
| Sol + ¹⁴ C-AP | 6 sols agricoles différents et boues de STEP | 4-NP | Microcosmes (10 ou 100 g sol) avec ¹⁴ C-NP dans des boues. Avec témoin stérile | 5 | 40 | 4,5-16,7 | 0,154-0,041 (a) | 1er ordre | Topp et Starratt, 2000 |
| | 2 sols agricoles et 1 sol servant de recharge des eaux à partir d'eaux usées | 4-NP | Microcosmes (10 g sol) avec ¹⁴ C-NP ajouté. Avec témoin stérile | 0,053 | 112 | 2,87-3,86 | 0,24-0,18 | 1er ordre | Dodgen et al., 2014 |
| | Sol de rizière | 4-NP | Microcosmes (2 g sol) avec ¹⁴ C-4-NP ajouté. Avec témoin stérile | 12,6 | 49 | 16,1 | 0,043 | 1er ordre | Liu et al., 2014 |

Ainsi, la biodégradation du 4-NP est souvent incomplète dans les sols en raison de sa forte sorption aux matériaux organiques, rendant la molécule inaccessible aux microorganismes car moins biodisponible (Liu et al., 2014 ; Dodgen et al., 2014). La fraction résiduelle peut être formée par différents mécanismes (diffusion dans les micropores, interactions avec les substances humiques, Riefer et al., 2013 ; Liu et al., 2014) et ainsi la quantité de résidus dans les sols dépend de la teneur en argile et en matière organique (Riefer et al., 2013). En raison de l'adsorption élevée et sa biodégradation possible, le 4-NP aurait un faible risque de lixiviation donc de contamination les eaux souterraines (Sjöström et al. 2008; Brown et al. 2009; Mao et al. 2012).

Concernant enfin le rôle de la végétation sur la biodégradation du 4-NP, Toyama et al. (2011) ont comparé la biodégradation aérobie dans des sédiments d'un marais plantés de *P.australis*. Ils ont montré que les microorganismes de sédiments plantés ont significativement plus dégradé le 4-NP que les sédiments non plantés (53 % contre 9.2 % respectivement) montrant le rôle stimulant des plantes. Brown et al. (2009) ont étudié le rôle du blé dans la biodégradation du 4-NP dans des sols agricoles. Le temps de demi-vie du 4-NP était plus faible dans le sol planté par rapport au sol non planté (16 jours contre 23 jours respectivement). Ainsi, la présence des plantes et notamment de leur rhizosphère, accélère la biodégradation du 4-NP dans les sols.

Moins de publications ont étudié la biodégradation du 4-OP (3 articles trouvés). Le temps de demi-vie moyen du **4-OP** est de **11.2 jours**, avec un minimum de 5 jours et un maximum de 19.3 jours (Tableau 1.29) (Ying et Kookana, 2005 ; Shibata et al., 2006 ; Langdon et al., 2011). Le 4-OP semble ainsi être légèrement plus rapide à dégrader que le 4-NP. Pourtant, lorsqu'une étude analysait à la fois le 4-NP et le 4-OP, ce dernier présentait des temps de demi-vie généralement supérieurs (Ying et Kookana, 2005 ; Langdon et al., 2011).

(c) Microorganismes participant à la biodégradation des alkylphénols

Certains microorganismes participants à la biodégradation des AP ont été caractérisés, mais leur étude reste assez faible et concerne surtout le 4-NP. Ces microorganismes ont révélé être capable d'utiliser l'AP ciblé comme source de carbone et d'énergie. Deux revues bibliographiques ont recensé les genres bactériens connus pour leur capacité de dégradation du **4-NP** dans différentes matrices solides aérobies (sols, sédiments et boues) (Corvini et al., 2006 ; Zhang et al., 2016b), d'autres publications ont également mis en évidence d'autres genres (Soares et al., 2003 ; Chan et al., 2007b ; Toyama et al., 2011 ; Watanabe et al., 2012 ; Wang et al., 2015b ; Ma et al., 2016 ; Shi et al., 2022) (Tableau 1-26). Les genres, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Sphingobium*, *Sphingomonas* et *Stenotrophomonas*, *Cytophaga*, *Rhizobium*, *Acinetobacter*, *Ochrobactrum*, *Acidovorax*, *Methylobacillus*, *Xanthomonas*, *Lysobacter*, *Hyphomicrobium* et *Streptomyces* sont connus pour leur capacité à biodégrader le 4-NP. D'autres études ont montré un lien entre dégradation du 4-NP et augmentation de certains genres bactériens, indiquant un rôle très probable dans la biodégradation du 4-NP (Kane et al., 2007 ; Wang et al., 2014 ; Cheng et al., 2017 ; Montenegro et al., 2021) : *Methylothermobacter*, *Methylophilus*, *Brevundimonas*, *Flavobacterium*, *Rhodobacter* et *Methylobium*. Ces résultats indiquent que les genres *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Bacillus* et *Sphingobium* sont les plus souvent cités. Enfin, *Sphingomonas* est notamment un genre bactérien capable de biodégrader le 4-NP jusqu'en CO₂ et H₂O (minéralisation complète), et étant capable d'utiliser le 4-NP comme source unique de carbone et d'énergie, elle semble être celle possédant la capacité de dégradation la plus élevée.

Concernant les champignons, des genres issus de sédiments ou sols ont montré une capacité à dégrader le 4-NP (ou 4-OP), notamment au travers des enzymes libérées : *Aspergillus*, *Bjerkandera*, *Formitella*, *Gliocladium*, *Irpex*, *Phanerochaete*, *Pleurotus*, *Polyporellus*, *Schizophyllum* et *Trametes* (Soares et al., 2005 ; Moon et Song, 2012 ; Yang et al., 2018). Les genres *Trametes*, *Bjerkandera*, *Irpex* et *Gliocladium* ont montré des taux de dégradation les plus élevés.

Pour le **4-OP**, beaucoup moins d'étude se sont concentrées sur sa biodégradation. Les genres *Stenotrophomonas*, *Sphingobium* et *Bacillus* sont capables de biodégrader le 4-OP dans des matrices solides en condition aérobie (Toyama et al., 2011, Liu et al., 2008) (Tableau 1.26) et d'autres genres jouent probablement un rôle important dans sa biodégradation (Montenegro et al., 2021) : *Methylothermobacter*, *Methylophilus* et *Hyphomicrobium*.

Les microorganismes pouvant biodégrader des **APnEO** et le **4-OP** sont moins connus (Tableau 1.26). *Chen et al. (2005)* et *Rulianti et al. (2007)* ont étudié les genres bactériens pouvant dégrader des octylphénols polyéthoxylés (OPnEO) en milieu solide et en condition aérobies. Les genres *Bradyrhizobium*, *Afipia* et *Pseudomonas* ont été capable de dégrader les OPnEO. Concernant les nonylphénols polyéthoxylés, *Gu et al. (2010)* ont isolé des bactéries capables de dégrader ces molécules dans des boues activées de station de traitement des eaux usées. 7 genres ont été identifiés : *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Sphingobium*, *Cupriavidus*, *Ralstonia*, *Achromobacter* et *Staphylococcus*.

Tableau 1.26 : Genres bactériens connus pour leur capacité à dégrader les alkylphénols dans des sols, sédiments ou boues. En bleu : genres jouant un rôle très probable dans la biodégradation des AP. (Soares et al., 2003 ; Chang et al. 2007 ; Watanabe et al., 2012 ; Wang et al., 2015b ; Ma et al., 2016 ; Shi et al., 2022 ; Wang et al., 2014 ; Cheng et al., 2017 ; Corvini et al., 2006 ; Zhang et al., 2016b ; Montenegro et al., 2021 ; Toyama et al., 2011 ; Liu et al., 2008 ; Chen et al., 2005 ; Rulianti et al., 2007 ; Gu et al., 2010).

| Composé | Matrice | Genres recensés (matrices solides et aérobie) | Référence |
|------------|-----------------------------|--|-------------------------|
| 4-NP | Sol | <i>Pseudomonas</i> , <i>Stenotrophomonas</i> | Soares et al., 2003 |
| 4-NP | Sol | <i>Ochrobactrum</i> , <i>Cytophaga</i> | Chang et al., 2007 |
| 4-NP | Sol | <i>Pseudomonas</i> , <i>Acidovorax</i> | Watanabe et al., 2012 |
| 4-NP | Sol | <i>Acidovorax</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Rhizobium</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Sphingomonas</i> et <i>Sphingobium</i> | Wang et al., 2015b |
| 4-NP | Sol et biochar | <i>Methylobacillus</i> , <i>Azotobacterium</i> , <i>Sphingomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , and <i>Hyphomicrobium</i> | Ma et al., 2016 |
| 4-NP | Sol | <i>Pseudomonas</i> , <i>Sphingomonas</i> , <i>Lysobacter</i> , <i>Streptomyces</i> | Shi et al., 2022 |
| 4-NP | Sédiment | <i>Sphingobium</i> , <i>Methylobacillus</i> , <i>Xanthomonas</i> | Wang et al., 2015 b |
| 4-NP | Sédiment | <i>Brevundimonas</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Lysobacter</i> , <i>Rhodobacter</i> | Wang et al., 2014 |
| 4-NP | Sédiment | <i>Pseudomonas</i> , <i>Sphingomonas</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Lysobacter</i> | Cheng et al., 2017 |
| 4-NP | Sédiment, et boues | <i>Sphingomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Sphingobium</i> , <i>Arthrobacter</i> et <i>Stenotrophomonas</i> | Corvini et al., 2006 |
| 4-NP | Sols, Sédiment et boues | <i>Arthrobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Sphingobium</i> , <i>Sphingomonas</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Cytophaga</i> et <i>Rhizobium</i> | Zhang et al., 2016b |
| 4-NP, 4-OP | Sable mélangé à du sédiment | <i>Methylothera</i> , <i>Methylophilus</i> et <i>Hyphomicrobium</i> | Montenegro et al., 2021 |
| 4-NP, 4-OP | Sédiment | <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Sphingobium</i> | Toyama 2011 |
| 4-OP | Boues | <i>Bacillus</i> | Liu et al., 2008 |
| OPnEO | Sol et sédiment | <i>Pseudomonas</i> | Chen et al., 2005 |
| OPnEO | Sol | <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Afipia</i> | Rulianti et al., 2007 |
| NPnEO | Boues | <i>Pseudomonas</i> , <i>Sphingomonas</i> , <i>Sphingobium</i> , <i>Cupriavidus</i> , <i>Ralstonia</i> , <i>Achromobacter</i> et <i>Staphylococcus</i> . | Gu et al., 2010 |

III-2.4.3. (Bio)dégradation du bisphénol-A

Le devenir du BPA dans l'environnement a été étudié dès la fin des années 1980, et son mécanisme de biodégradation par les microorganismes a pu être mis en évidence en laboratoire en milieu liquide (eau douce issue d'un cours d'eau) (Dorn *et al.*, 1987). La biodégradation du BPA a lieu uniquement en milieu aérobie ; en milieu anaérobie (dans des sédiments notamment), aucune diminution significative des concentrations en BPA n'est généralement observée (Voordeckers *et al.*, 2002 ; Ying *et al.*, 2005). L'étude de Yang *et al.* (2015) est la seule ayant montré une dégradation lente mais possible du BPA. Il est donc considéré comme non biodégradable en conditions anoxiques, ce qui peut provoquer une accumulation du BPA dans les sédiments notamment (et éventuellement un relargage au long terme dans les cours d'eau). La biodégradation du BPA a surtout été étudiée dans des milieux liquides (eaux douces, eaux de station d'épuration...) mais elle a également été démontrée dans les sols, et les microorganismes pouvant réaliser cela sont nombreux (Matsumura *et al.*, 2009 ; Sasaki *et al.*, 2005 ; Im *et al.*, 2016 ; Li *et al.*, 2012 ; Mtibaà *et al.*, 2018 ; Zhang *et al.*, 2013 ; Peng *et al.*, 2015 ; Zaborowska *et al.*, 2020 ; Toyama *et al.*, 2009).

(a) Voies de biodégradation du bisphénol-A

Plusieurs études ont été réalisées afin de déterminer les mécanismes de biodégradation du BPA et des produits intermédiaires dans différentes matrices (eau, sédiments, sols). Deux voies peuvent être prises par essentiellement les bactéries pour biodégrader le BPA (Figure 1.16). Spivack *et al.* (1994) et Eio *et al.* (2014) notamment ont mis en évidence ces différentes voies par l'expérience en laboratoire.

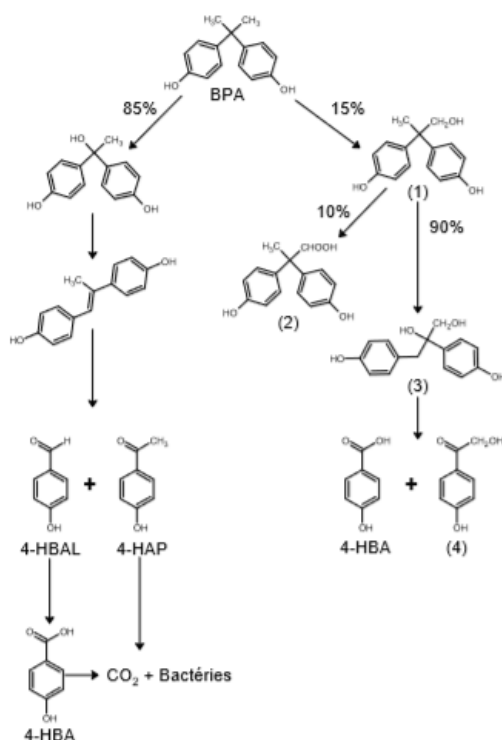


Figure 1.16 : Mécanismes conduisant à la biodégradation du Bisphénol A (issu de Spivack *et al.* 1994).

La première voie, dite « majeure » (environ 85 % de la biodégradation du BPA), consiste en une première oxydation du BPA puis en une métabolisation (en plusieurs étapes) permettant d'aboutir à la formation de 4-hydroxybenzaldéhyde (4-HBAL) et de 4-hydroxyacetophénone (4-HAP). Le 4-HBAL subit ensuite une autre oxydation pour devenir de l'acide 4-hydroxybenzoïque (4-HBA). Le 4-HBA et le 4-HAP peuvent finalement être totalement minéralisés par les bactéries.

La seconde voie, dite « mineure » (environ 15 % de la biodégradation) débute par une oxydation du BPA donnant du 2,2-bis(4-hydroxyphényl)propan-1-ol (1). Ce composé va par la suite pouvoir soit s'oxyder pour donner de l'acide 2,2-bis(4-hydroxyphényl)propanoïque (2), soit se métaboliser en

2,3bis(4-hydroxyphényl)propan-1,2-diol (3). La chaîne propanediol de ce dernier va alors pouvoir être séparée pour donner soit du 4-HBA, soit du 4-hydroxyphenacyl alcohol (4). Le 4-HBA va pouvoir être totalement biodégradé, mais d'après *Ike et al. (2002)*, le (3) et (4) pourraient rester dans l'environnement de l'ordre du mois, en raison d'une plus faible biodégradabilité.

D'autres voies bactériennes existent mais sont minoritaires (*Eio et al., 2014, Zhang et al., 2013*) ; et ne seront pas décrites ici.

(b) *Dégradation dans les sols :*

Le BPA est plus biodisponible que les autres MPO de façon générale dans les sols, en raison de sa plus faible adsorption (cf. I-7.2). En effet, bien qu'elle soit assez élevée dans les sols (log Kow de 3,4), plus que les phtalates à chaîne courte (1,6 à 2,5), elle reste plus faible que tous les AP (entre 3,7 et 5,4) et phtalates à chaîne longue (4,11 à 9,52). La biodégradation du BPA dans les sols a été étudiée, mais essentiellement dans des sols agricoles ou amendés en boues ; les sols/substrats d'OGEP ne l'ont pas encore été.

Le Tableau 1.27 résume les différentes références disponibles concernant la (bio)dégradation du BPA dans des sols. Les mêmes types d'essais ont été réalisés que pour les AP. Les teneurs en laboratoire variaient de 0,0059 à 25 mg/kg (moyenne de 4,8 mg/kg) et les temps d'incubation variaient aussi, allant de 6 à 224 jours (moyenne de 74 jours). Comme pour les AP, la majorité ont utilisé une cinétique de premier ordre, et ceux utilisant un modèle biphasiques ont également montré une meilleure corrélation des données avec le modèle (R^2 de 0,29 à 0,55 pour le premier ordre contre 0,53 et 0,68 pour le biphasique, *Langdon et al., 2011*)

Toutes les publications ayant calculé les DT50 du BPA ont utilisé des teneurs inférieures à 1mg/kg ce qui est bien moins que pour les AP et PAE (les teneurs plus élevées retrouvées dans le tableau sont des études ayant étudié des % de dégradation du BPA). A ces plages de teneurs, aucune relation n'a été trouvée entre DT50 et teneurs en comparant les études entre elles. Le temps de demi-vie moyen du **BPA** calculé à partir des différentes études (sans utilisation de ^{14}C -BPA) est de **4,6 jours**, avec un minimum à 0,81 jours et un maximum à 8,7 jours (Tableau 1.29) (*Ying et Kookana, 2005 ; Xu et al., 2009 ; Langdon et al., 2011 ; Li et al., 2013*). Il s'agit donc du MPO étudié dans cette synthèse le plus rapidement dégradé dans les sols.

L'étude de la dégradation du BPA à l'aide de radio-marqueur (^{14}C -BPA) a également été réalisée (*Fent et al., 2003 ; Dodgen et al., 2014 ; Shen et al., 2017*). Dans toutes ces études, une tendance globale s'observe ; le BPA est rapidement dissipé dans les sols et cela est principalement lié à la formation de résidus liés non extractibles. En effet, selon les études, entre 53 et 78 % du ^{14}C -BPA était présent sous cette forme à la fin de l'incubation. Cela est lié à sa forte adsorption aux particules du sol rendant le composé faiblement biodisponible pour les microorganismes. Le second processus de dissipation était la minéralisation du composé par les micro-organismes du sol, avec entre 15 et 23 % du ^{14}C -BPA émis sous forme de CO_2 . La minéralisation du composé reste donc lente dans les sols mais elle est possible. *Dodgen et al. (2014)*, ont étudié le 4-NP et le BPA. Ce pourcentage de ce dernier dans la fraction non extractible était plus important, cependant il a également été plus minéralisé que le 4-NP. Le BPA et le 4-NP sont donc deux composés dont le devenir dans le sol sera surtout d'être fortement lié aux particules du sol (sous forme de résidus liés), mais la minéralisation totale de ces composés reste réalisable, en plus faible proportion pour le 4-NP par rapport au BPA. Enfin, la fraction du ^{14}C -BPA extractible dans les sols diminuait toujours rapidement avec le temps jusqu'à être très faible à la fin de l'incubation (moins de 5 % à 15 %). Sa diminution était principalement liée au fait que cette fraction est plus biodisponible donc privilégiée pour la minéralisation.

Ainsi, comme les AP, la biodégradation du BPA est incomplète dans les sols (forte sorption aux matériaux organiques) (*Fent et al., 2003 ; Dodgen et al., 2014*). En revanche, en raison de l'adsorption élevée et la biodégradation fortement possible de la fraction extractible, le BPA aurait un faible risque de lixiviation donc de contamination les eaux souterraines (*Fent et al., 2003*).

Tableau 1.27 : Biodégradation aérobie du bisphénol-A (BPA) dans les sols ou sédiments, plantés ou non selon 10 publications (Toyama et al., 2009 ; A et al., 2017 ; Ying et Kookana, 2005 ; Xu et al., 2009 ; Langdon et al., 2011 ; Li et al., 2013 ; Tran et al., 2015 ; Fent et al., 2003 ; Dodgen et al., 2014 ; Shen et al., 2017). La méthodologie, les temps de demi-vie (DT50) et constantes de dégradation (k) obtenus sont fournis. (a) : non fourni dans l'article mais obtenu par le calcul à partir du DT50 ; (b) : correspond au sol ayant le DT50 le plus faible.

| | Site d'étude | Méthode | Teneurs T0 (mg/kg) | Temps incubation (j) | DT50 (j) | k (j-1) | Equation de cinétique utilisée | Référence |
|---------------------------|--|--|------------------------------------|----------------------|--|--|--------------------------------|-----------------------|
| Sol + BPA | Etang planté de <i>P. australis</i> : Sédiment rhizosphérique ou non | Mésocosmes (100 g sédiment) avec ajout de BPA. Conditions : planté, non planté et stérile | 25 | 42 | Non planté : 21 % de dégradation Planté : 90 % dégradation Stérile : 3,5 % de dégradation | | Pas de cinétique réalisée | Toyama et al., 2009 |
| | Gravier et <i>P. australis</i> pour simuler un FPR-V traitant les eaux de lixiviat | Colonnes plantées ou non de <i>P. australis</i> . Puis mésocosmes de gravier des colonnes (5 g) dans 10mL de solution avec BPA (10mg/L). | 20 | 6 | Planté : biodégradation plus rapide, plus de bactéries dégradant le BPA | | Pas de cinétique réalisée | A et al., 2017 |
| | 4 sols agricoles recevant des eaux usées | Microcosmes (5 g sol) avec chaque polluant seul Avec témoin stérile | 1 | 70 | 7 | 0,099 (a) | 1er ordre | Ying et Kookana, 2005 |
| | 4 sols agricoles recevant des eaux usées | Microcosmes (5 g sol) avec ajout de BPA Avec témoin stérile | 0,1 et 1 | 45 | 0,1 ppm : 0,81-5,5 1 ppm : 1,90 (b) | 0,851-0,126 | 1er ordre | Xu et al., 2009 |
| | Sol agricole et 2 types de boues de STEP | Mésocosmes (50 g sol) avec ajout d'une ou de l'autre boue Sans témoin stérile | 0,0059 et 0,0098 | 224 | 1er ordre : 18-102 Biphasique : 7,7-8,7 | 1er ordre : 0,0385-0,0068 (a) Biphasique : 0,090-0,0797 (a) | 1er ordre et biphasique | Langdon et al., 2011 |
| | Sol de surface servant de recharge d'eaux souterraines à partir d'eaux usées | Mésocosmes (40 g sol) avec solutions de polluants différentes : polluant seul, polluants en mélange Sans témoin stérile | Seul : 0,5 BPA + 4-NP : 0,5 + 2,5 | 20 | Seul : 3,3 Mélange : 6,9 | Seul : 0,208 Mélange : 0,104 | 1er ordre | Li et al., 2013 |
| | Sol agricole recevant des boues de STEP | Expérience <i>in situ</i> : échantillons de surface prélevés à plusieurs temps après ajout de boues | 80.10 ⁻⁶ après épandage | 122 | 36 | 0,0193 | Non précisé (1er ordre) | Tran et al., 2015 |
| | - | - | - | - | 0,81-8,7 | 0,851-0,0797 | - | Synthèse (min-max) |
| Sol + ¹⁴ C-BPA | 4 sols agricoles | Mésocosmes (100 g sol) avec ¹⁴ C-BPA Sans témoin stérile | 0,06 | 120 | 78 % du ¹⁴ C-BPA sous forme de résidus liés et 15 % minéralisé | | Pas de cinétique réalisée | Fent et al., 2003 |
| | 2 sols agricoles et 1 sol servant de recharge des eaux à partir d'eaux usées | Microcosmes (10 g sol) avec ¹⁴ C-NP ajouté en solution Avec témoin stérile | 0,013 | 112 | 2,09-3,33 | 0,33-0,21 | 1er ordre | Dodgen et al., 2014 |
| | Tranchée de sol agricole qui reçoit des eaux usées | Microcosmes (5 g sol) avec 100µL d'eau usée contenant ¹⁴ C-BPA Sans témoin stérile | 0,1 µCi ¹⁴ C-BPA/5g | 28 | Plus de 60 % du ¹⁴ C-BPA sous forme de résidus liés et 18 % minéralisé | | Pas de cinétique réalisée | Shen et al., 2017 |

Concernant le rôle de la végétation sur la biodégradation du BPA, *Toyama et al. (2009)* ont étudié l'effet de la présence de *P. australis* sur la biodégradation du BPA dans des sédiments de rhizosphère d'un étang. Ils ont montré que les microorganismes de sédiments rhizosphériques plantés ont significativement plus dégradé le BPA que les sédiments non rhizosphériques non plantés (90 % contre 21 % respectivement, et 3,5 % de dégradation dans les témoins stériles) prouvant alors une biodégradation accélérée par les plantes. Contrairement au témoin sans plante, le nombre de bactéries dégradant le BPA dans les essais a beaucoup augmenté au cours de l'incubation, confirmant alors le rôle de l'effet rhizosphérique pour la dégradation de ce composé. *A et al. (2017)* ont également étudié l'effet de *P. australis* dans des colonnes de gravier simulant une ZHA traitant des eaux de lixiviat de décharges. Ils ont ensuite étudié la biodégradation du BPA dans du gravier rhizosphérique et non rhizosphérique. Dans les deux cas, 100 % du BPA était dégradé au bout de 6 jours, mais dans le cas du gravier rhizosphérique, c'était le cas au bout d'un jour seulement, donc les vitesses étaient plus élevées. Ces deux études indiquent donc d'une part que *P. australis* favorise la dégradation du BPA, mais également que le substrat choisi (gravier) contenait probablement déjà des microorganismes capables de dégrader ce composé. Plus récemment, *Tong et al. (2021)* ont étudié la dégradation du BPA en présence ou absence de trois différentes plantes dans des sols de mangrove. Ils ont montré que les taux de BPA dans tous les sols plantés étaient significativement inférieurs à ceux des sols non plantés au bout de 7 jours et 28 jours pour deux plantes, montrant alors une biodégradation plus importante en présence de plante. *Shrestha et al. (2021)* ont évalué la dégradation du BPA (et d'autres composés du bisphénol) avec ou sans *P. australis*. Tous les bisphénols ont eu une dégradation accélérée en présence de plante.

Enfin, une étude de dissipation du BPA *in situ* a été entreprise par *Tran et al. (2015)*. Ils ont étudié le devenir de ces polluants via un apport unique de boues de station d'épuration sur un sol agricole, avec des prélèvements périodiques *in situ* afin de suivre la dégradation du composé et donc le DT50 du BPA. Il s'agit du seul article ayant utilisé une méthode *in situ*. Le temps de demi-vie calculé sur le terrain est de 36 jours pour le BPA (contre 64 jours pour le DEHP). Ce temps est bien plus élevé que ceux retrouvés dans la littérature puisqu'il s'agit d'une étude *in situ*, où de nombreux paramètres ne sont pas contrôlés ou simplifiés. De plus, les contaminants apportés par des boues pourraient être sorbés de façon non réversible augmentant encore les temps de demi-vie. Cela permet de se rendre compte des simplifications faites au laboratoire, qui tendent à surestimer les temps de demi-vie des composés.

(c) Microorganismes participant à la biodégradation du bisphénol-A

La biodégradation du BPA a surtout été étudiée au travers de souches microbiennes (bactéries, champignons) isolées issues de différents milieux (sols, sédiments) (*Matsumura et al., 2009 ; Li et al., 2012 ; Sasaki et al., 2005 ; Im et Löffler, 2016 ; Mtibaà et al., 2018 ; Toyama et al., 2009*). Aucune étude de microorganismes capable de dégrader le BPA dans des OGEP n'a été trouvée.

Im et al. (2016), ainsi que *Sarma et al. (2019)* ont recensés 22 genres de bactéries aérobies capables de biodégrader le BPA dans différents milieux (sols ou sédiments, eaux usées, océans, eaux douces etc). Parmi les bactéries présentes dans des sols ou sédiments on retrouve plusieurs genres appartenant aux classes des Alphaproteobacteria (*Sphingomonas, Novosphingobium, Sphingobium, Sphingopyxis, Sinorhizobium*), Betaproteobacteria (*Alcaligenes, Bordetella, Nitrosomonas, Pandoraea, Variovorax, Cupriavidus*), Deltaproteobacteria (*Serratia, Enterobacter, Klebsiella, Aeromonas, Pseudomonas*), Gammaproteobacteria (*Lutibacter*) Bacillus (*Bacillus*), et Actinobacteria (*Arthrobacter, Rhodococcus*) (*Matsumura et al., 2009 ; Im et Löffler, 2016 ; Zhang et al., 2016b ; Sarma et al., 2019 ; Oh et Choi, 2019 ; Tian et al., 2022*) (Tableau 1.28). Les Proteobacteria semblent donc être l'embranchement contenant le plus de bactéries capables de biodégrader le BPA. D'autres études ont montré un lien entre dégradation du BPA et augmentation de certains genres bactériens, indiquant un rôle très probable dans sa biodégradation (*Li et al., 2019 ; Tong et al., 2021*) : *Geobacter, Desulfobulbus et Lutibacter* (Tableau 1.28).

Concernant les champignons, les genres suivant ont été rapportés dans la littérature (*Im et Löffler, 2016*) : *Pleurotus, Phanerochaete, Trametes, Irpex, Coprinus, Bjerkandera, Trametes, Coriolopsis, Paraconiothyrium, Grifola, Phlebia, Aspergillus, Cunninghamella*. Les enzymes produites par ces

champignons (manganèse peroxydases, peroxydases polyvalentes, laccases) peuvent dégrader le BPA.

Dans l'environnement, la biodégradation du BPA est réalisée en plusieurs étapes nécessitant des gènes et enzymes spécifiques. Ainsi, la biodégradation est réalisée avec des populations microbiennes mixtes. L'étude de la biodégradation du BPA en présence de consortiums bactériens (plusieurs souches inoculées) est plus récente (Eio et al., 2014 ; Peng et al., 2015 ; Sarma et al. 2019), elle permet de s'approcher des conditions environnementales. Cela a notamment permis de découvrir que le taux et la vitesse de dégradation du BPA étaient plus élevés en présence de plusieurs microorganismes qu'en présence d'un seul (*Bacillus subtilis*, *Citrobacter freundii* et *Citrobacter sp* présents, issus de sédiments, Sarma et al. 2019) . Le cométabolisme est un processus de biodégradation existant pour le BPA (Im et Löffler 2016).

Tableau 1.28 : Genres bactériens connus pour leur capacité à dégrader le bisphénol-A dans des sols, sédiments ou boues ou encore avec des souches pures. En bleu : genres jouant un rôle très probable dans la biodégradation. (Zhang et al., 2016b ; Im et Löffler, 2016 ; Matsumura et al., 2009 ; Tong et al., 2021 ; Li et al., 2019 ; Oh et Choi, 2019 ; Tian et al., 2022 ; Sarma et al., 2019).

| Matrice | Genres recensés (matrices solides et aérobie) | Référence |
|--------------------------|--|------------------------|
| Sols, sédiments et boues | <i>Pseudomonas</i> , <i>Serratia</i> , <i>Sinorhizobium</i> , <i>Sphingobium</i> , <i>Sphingomonas</i> , <i>Sphingopyxis</i> | Zhang et al., 2016b |
| Sols, sédiments | <i>Sphingomonas</i> , <i>Novosphingobium</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Bordetella</i> , <i>Nitrosomonas</i> , <i>Pandoraea</i> , <i>Variovorax</i> , <i>Serratia</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Arthrobacter</i> | Im et Löffler, 2016 |
| Sols | <i>Sphingomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> | Matsumura et al., 2009 |
| Sols | <i>Pseudomonas</i> , <i>Lutibacter</i> , <i>Novosphingobium</i> | Tong et al., 2021 |
| Boues | <i>Geobacter</i> , <i>Desulfobulbus</i> , <i>Serratia</i> | Li et al., 2019 |
| Boues | <i>Sphingobium</i> , <i>Novosphingobium</i> et <i>Sphingopyxis</i> | Oh et al., 2019 |
| Souche pure | <i>Rhodococcus</i> | Tian et al., 2022 |
| Souches pures | <i>Bacillus</i> , <i>Cupriavidus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Serratia</i> , <i>Sphingomonas</i> | Sarma et al., 2019 |

III-2.5. Conclusion sur la biodégradation des micropolluants organiques

Tout d'abord, concernant les cinétiques utilisées pour représenter les données de dégradation mesurées, l'équation la plus utilisée est celle du **premier ordre**. Le plus souvent, elle suffit pour expliquer les données, mais dans certains cas, un modèle biphasique décrivait mieux les données (Langdon et al., 2011 ; Sjöström et al., 2008). C'est pourquoi, il est important de vérifier la pertinence du modèle utilisé avant toute chose.

Plusieurs **facteurs** affectent la dégradation des micropolluants organiques. Tout d'abord, la structure du composé étudié (paramètres intrinsèques) et sa concentration initiale (les vitesses de dégradation tendent à diminuer avec l'augmentation de la concentration) jouent un rôle très important ; la masse molaire et l'hydrophobicité induisent une dégradation plus faible. Puis, les paramètres du sol (pH, teneurs en matières organiques, CEC, communautés microbiennes du sol), les conditions environnementales (température, humidité) et le type d'utilisation des terres (urbain, agricole, industriel, forêts...) ont une importance également (Mao et al., 2012). La biodégradation tend à être plus importante dans les sols/substrats neutres (pH autour de 7), riches en oxygène (dégradation aérobie), en carbone et nutriments (cométabolisme) ou encore à des températures élevées (augmentation des vitesses avec la température)

Concernant la biodégradation des MPO émergents (AP et BPA), les **méthodes** et protocoles mis en place par les auteurs pour évaluer la biodégradation des MPO sont très **hétérogènes**. Il n'y a aujourd'hui pas de norme bien définie pour la dégradation dans les sols. Bien qu'il existe certaines normes comme NF EN ISO 11266 (ISO, 1994), ou des textes des organisme gouvernementaux comme l'OCDE (OECD, 2002) ou le SETAC (Lynch, 1995) l'hétérogénéité des polluants, sols, types d'expériences rend la procédure très complexe. Les procédures se résument en général en un ajout de

polluant à un volume donné de sol, qui est ensuite incubé à des paramètres environnementaux stables et contrôlés. Au cours du temps, la diminution des teneurs en composé traduit sa dégradation, ce qui permet de finalement calculer les vitesses et temps de demi-vie des cinétiques associées. Les essais de biodégradation présentés révèlent que les teneurs utilisées dans les essais étaient généralement plus élevées que dans les milieux naturels ou dans des OGEP. Par exemple, pour le 4-NP, les valeurs dans deux OGEP variaient entre 0,46 et 3,1 mg/kg (; *Flanagan et al., 2019b*) et celles dans les essais de biodégradation entre 0,5 et 300 mg/kg, avec 8 études sur 11 ayant utilisé des teneurs supérieures à 5 mg/kg. Les teneurs utilisées pouvaient donc être jusqu'à 652 fois plus élevées que dans les OGEP. Cela s'explique grandement par une contrainte analytique, de pouvoir détecter la molécule étudiée encore à la fin des expérimentations, et ceci notamment dans la phase solide où les LQ sont plus élevées que dans la phase liquide.

La **biodégradation aérobie** par les microorganismes du sol a été démontrée pour tous les MPO étudiées, cependant à des vitesses différentes. L'étude bibliographique de la biodégradation des **phtalates** (PAE) a également été réalisée, elle est présentée en Annexe 1-8. Le Tableau 1.29 synthétise les temps de demi-vie moyens calculés à partir des différentes références étudiées. Le BPA est le composé le plus dégradé (4,6 jours en moyenne), suivi des PAE à chaîne courte, DBP, DMP et DEP (8,43 à 10,65 jours en moyenne), puis des AP, 4-NP et 4-OP (11,2 à 12,3 jours en moyenne) et enfin des phtalates à chaîne longues, DEHP et DnOP (40,3 à 64,1 jours en moyenne). Le BPA et les phtalates à chaîne longue se différencient plus des autres MPO, l'un étant plus rapidement dégradé et les autres plus lentement. Ces valeurs rapportées dans la littérature sont cohérentes avec leurs masses molaires et log Kow qui augmentent selon un ordre similaire (Tableau 1.29) Pour le BPA, on remarque tout de même qu'il présente une masse molaire et un log Kow plus élevés que certains PAE et AP mais il reste le plus dégradé. Cela pourrait s'expliquer par sa solubilité plus élevée (Tableau 1.7).

Tableau 1.29 : Synthèse des temps de demi-vie (DT50) moyens (min-max) calculés des 3 familles de MPO à partir des références citées, et comparaison avec les propriétés physico-chimiques des composés. 4-NP : 4-nonylphénol, 4-OP : 4-ter-octylphénol, BPA : bisphénol-A, DMP : diméthyle phtalate, DEP : diéthyle phtalate, DBP : di-isobutyl phtalate, DEHP : bis(2-ethylhexyl) phtalate, DnOP : di-n-octyl phtalate.

| Famille | Molécule | DT50 (j) Moyenne (min-max) | DT50 (j) moyenne avec ¹⁴ C | Masse molaire (g/mol) | Log Kow |
|---------|----------|-------------------------------|---|--------------------------|----------|
| AP | 4-NP | 12,3 (4,6-23) | 12,4 | 220,3 | 4,1-6,36 |
| | 4-OP | 11,2 (5-19,3) | | 206,3 | 3,7-4,1 |
| BPA | BPA | 4,6 (0,81-8,7) | | 228,3 | 3,3 |
| | DMP | 8,53 (2,29-15,7) | | 194,2 | 1,6 |
| | DEP | 10,7 (3,7-19,3) | | 222,2 | 2,47 |
| PAE | DBP | 9,5 (0,34-31,2) | | 278,3 | 4,45 |
| | DEHP | 40,3 (26,3-64) | 77,8 | 390,6 | 7,9 |
| | DnOP | 64,1 (28,4-115) | | 390,6 | 8,1 |

La **biodégradation anaérobie** a été moins détaillée dans ce chapitre, car peu présente dans la littérature et car cette condition n'est pas présente dans le FPR vertical étudié. De façon générale elle est soit possible mais avec des vitesses plus faibles que celles en aérobie (c'est le cas des PAE par exemple), ou alors elle est impossible (c'est le cas du BPA et de la biodégradation ultime du 4-NP).

Enfin, cette étude bibliographique a permis de voir trois approches possibles pour étudier la dégradation des MPO : des essais au laboratoire avec l'ajout de polluants dans du sol, des essais laboratoire mais avec l'ajout de ¹⁴C-polluant et des essais *in situ*. En général, la relation suivante s'est observée : **DT50 essai classique < DT50 In Situ et DT50 ¹⁴C**. Cela reste cohérent puisque d'une part le ¹⁴C permet de déterminer la part de polluant minéralisé donc sous forme gazeuse (contrairement à l'étude dite classique qui mesure la dégradation du composé soit sous forme gazeuse mais aussi sous forme de métabolite) et d'autre part une étude *in situ* ne simplifie pas les processus et conditions. Ainsi, les essais classiques au laboratoire ont tendance à surestimer les temps de demi-vie des composés. Cependant,

ils restent bien plus simples et moins coûteux à mettre en place, ce qui en fait les essais les plus largement répandus dans la littérature.

Concernant les **microorganismes connus pour avoir la capacité de biodégrader les MPO** étudiés au cours de cette thèse, le Tableau 1.30 synthétise les différents genres bactériens et fongiques recensés dans la littérature. Concernant les **bactéries**, les genres *Pseudomonas* et *Sphingomonas* ont été recensés comme pouvant dégrader tous les MPO ciblés (excepté OPnEO pour *Sphingomonas*), ainsi ce sont deux genres très intéressants pour la dégradation de ces familles dans un FPR. Les genres *Arthrobacter* et *Bacillus* ont également montré des capacités à dégrader les trois familles de polluants. Enfin, les genres *Sphingobium*, *Acinetobacter*, *Corynebacterium*, *Xanthomonas*, *Flavobacterium*, *Cupriavidus*, *Rhodococcus* ont la capacité de dégrader au moins deux familles de polluants. Concernant les **champignons**, les genres *Aspergillus*, *Phanerochaete* et *Trametes* ont montré une capacité à dégrader les trois familles de polluants, tandis que les genres *Bjerkandera*, *Irpex* et *Pleurotus* ont été recensés pour dégrader les AP et le BPA, ils sont donc intéressants également.

Tableau 1.30 : Synthèse des genres microbiens recensés dans la littérature citée pouvant dégrader les micropolluants organiques, dans des matrices solides, en condition aérobie. Les genres colorés en **bleu** ont été recensés pour 2 familles de polluants sur 3, ceux colorés en **vert** l'ont été pour les 3 familles et ceux en **vert et gras** ont été recensés pour tous les 3 familles des composés présentés. (1) Soares et al., 2003 ; (2) Chang et al., 2007 ; (3) Watanabe et al., 2012 ; (4) Wang et al., 2015b ; (5) Ma et al., 2016 ; (6) Shi et al., 2022 ; (7) Corvini et al., 2006 ; (8) Zhang et al., 2016b ; (9) Toyama et al., 2011 ; (10) Liu et al., 2008 ; (11) Chen et al., 2005 ; (12) Rulianti et al., 2007 ; (13) Gu et al., 2010 ; (14) Im et Löffler, 2016 ; (15) Matsumura et al., 2009 ; (16) Oh et Choi, 2019 ; (17) Tian et al., 2022 ; (18) Sarma et al., 2019 ; (19) Liang et al., 2008 ; (20) Gao et Wen, 2016 ; (21) Cheng et al., 2018 ; (22) Zhu et al., 2018 ; (23) Wen et al., 2014.

| Micropolluant organique | Genres bactériens recensés | Genres fongiques recensés |
|--|--|---|
| 4-NP ^(1,2,3,4,5,6,7,8,9) | <i>Arthrobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Sphingobium</i> , <i>Sphingomonas</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Cytophaga</i> , <i>Ochrobactrum</i> , <i>Rhizobium</i> , <i>Methylobacillus</i> , <i>Xanthomonas</i> , <i>Acidovorax</i> , <i>Lysobacter</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Hyphomicrobium</i> | <i>Aspergillus</i> , <i>Bjerkandera</i> , <i>Formitella</i> , <i>Gliocephalotrichum</i> , <i>Irpex</i> , <i>Phanerochaete</i> , <i>Pleurotus</i> , <i>Polyporellus</i> , <i>Schizophyllum</i> et <i>Trametes</i> |
| 4-OP ^(9,10) | <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Sphingobium</i> , <i>Bacillus</i> | - |
| OPnEO ^(11,12) | <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Afipia</i> , <i>Pseudomonas</i> | - |
| NPnEO ⁽¹³⁾ | <i>Pseudomonas</i> , <i>Sphingomonas</i> , <i>Sphingobium</i> , <i>Cupriavidus</i> , <i>Ralstonia</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Staphylococcus</i> | - |
| BPA ^(8,14,15,16,17,18) | <i>Sphingomonas</i> , <i>Novosphingobium</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Bordetella</i> , <i>Nitrosomonas</i> , <i>Pandoraea</i> , <i>Variovorax</i> , <i>Serratia</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Arthrobacter</i> , <i>Sphingobium</i> , <i>Sphingopyxis</i> , <i>Sinorhizobium</i> , <i>Cupriavidus</i> , <i>Rhodococcus</i> | <i>Pleurotus</i> , <i>Phanerochaete</i> , <i>Trametes</i> , <i>Irpex</i> , <i>Coprinus</i> , <i>Bjerkandera</i> , <i>Coriolopsis</i> , <i>Paraconiothyrium</i> , <i>Grifola</i> , <i>Phlebia</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Cunninghamella</i> |
| PAE ^(19,20,21,22,23) (non différenciés) | <i>Sphingomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Xanthomonas</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Aureobacterium</i> , <i>Gordonia</i> , <i>Brevibacterium</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Arthrobacter</i> , <i>Rhodococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Flavobacterium</i> | <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Sclerotium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Polyporus</i> , <i>Phanerochaete</i> , <i>Trametes</i> , et <i>Daldinia</i> |

Pour finir, toutes ces études ont porté sur des sols, le plus souvent amendés en boues de station d'épuration (sauf 2 ayant porté sur dans des sables de ZHA pour le traitement d'eaux autres que de ruissellement, A et al., 2017 ; Zhou et al., 2005). Le type de sol/substrat est pourtant un facteur influençant la dégradation et celui des FPR est très différent d'un sol naturel. La biodégradation des MPO dans ces types de substrats reste donc à explorer.

III-3. Conclusion sur les rôles de la végétation et des microorganismes

Cette dernière partie de l'état de l'art a mis en évidence les rôles de deux compartiments biologiques essentiels au bon fonctionnement des FPR pour le traitement des eaux de ruissellement. D'une part, plusieurs fonctions sont portées par la végétation (*P. australis*). Elle permet de favoriser l'hydraulique des FPR en limitant le colmatage et en améliorant la percolation. Le développement de son système racinaire permet également de stimuler les communautés microbiennes au travers de la rhizosphère par la production d'exsudats racinaires notamment. L'activité, l'abondance et la diversité microbienne sont alors plus importantes dans cette zone (Pinton et al., 2007, Kuzyakov et Blagodatskaya (2015)). Le prélèvement d'eau et nutriments par les racines du végétal implique également une absorption de MPO et ETM au sein de ses différents tissus (racine, rhizome, tige, feuille). L'absorption de MPO semble plus importante que celle des ETM, cependant, la participation de ce mécanisme à la rétention des micropolluants semble rester minoritaire dans cette espèce, moins de 0,1 % des ETM y seraient retenus dans les FPR (Schmitt et al., 2015).

De nombreuses bactéries et champignons se développent dans les OGEP ; leurs activités et abondances semblent majoritaires en surface et sont impactées par de nombreux facteurs, tels que les paramètres édaphiques du sol ou substrat, les conditions environnementales, surtout la température, le type d'OGEP et le type d'eaux reçues, la présence et le type de végétation et enfin la pollution du sol ou substrat. Les populations microbiennes des OGEP commencent à être connues, mais leurs rôles concernant la rétention et l'élimination des micropolluants restent encore peu documentés. Une fonction très importante portée par les microorganismes est la biodégradation de polluants organiques, permettant l'élimination du composé une fois retenus dans le FPR. Concernant les MPO, bien que leur dégradation n'ait jamais été mise en évidence dans des OGEP, des publications ont révélé que certaines populations bactériennes et fongiques de sols avaient cette capacité. Le paragraphe III-2.5 ayant largement conclu sur ce rôle, il ne sera pas rappelé ici.

Cette troisième partie révèle donc un manque de connaissance du fonctionnement et du rôle des microorganismes dans les OGEP alors qu'ils sont un acteur clé du bon fonctionnement du système. Ce sera un des objectifs à atteindre au cours de ce manuscrit.

PARTIE 2 - MATERIEL ET METHODES

IV - Présentation du site d'étude

IV-1. Le bassin versant et les eaux captées

Le site d'étude est un ouvrage de gestion des eaux pluviales semi-centralisé, c'est-à-dire qu'il n'est pas directement à la source du ruissellement des eaux pluviales, mais dans un périmètre proche. Il est situé dans le nord du Bois de Boulogne (48°52'28.6"N 2°15'43.6"E), à l'ouest de la ville de **Paris**, en région Ile-de-France (Figure 2.1). L'ouvrage a été mis en place pour traiter les eaux de ruissellement provenant d'une partie du boulevard périphérique ouest parisien. Cet axe routier imperméable draine en moyenne 1,1 millions de déplacements par jours, soit près de 3 % des déplacements quotidiens en Ile-de-France (*Berger, 2020*), il s'agit donc d'un axe routier très fréquenté. La portion du boulevard périphérique captée va de la porte Maillot jusqu'à la route des Lacs à Passy (Annexe 2-1), soit un tronçon de 2,6 km de long avec une surface du bassin versant de **21,1 ha**.

A ces eaux de ruissellement s'ajoutent des surverses occasionnelles de réseau unitaire par temps de pluie provenant d'un bassin versant de 72 ha. En moyenne, le nombre d'événement pluvieux induisant des surverses unitaires est de 7 par an (modélisé à partir des résultats de pluviométrie entre 2010 et 2013). Enfin, par temps sec, l'ouvrage est alimenté par des eaux claires (faiblement contaminées) provenant des eaux d'infiltration de l'ensemble des collecteurs amont (eaux de nappe).

Concernant les volumes, les volumes annuels d'eau par temps de pluie captés dans ce tronçon du périphérique sont compris entre 50 000 et 180 000 m³/an (mesurés entre 2003 et 2014). Cela intègre les eaux de ruissellement et les surverses unitaires, mais ces dernières représentent un très faible volume par rapport aux eaux de ruissellement (volume des surverses annuelles mesuré entre 2010 et 2013 variant entre 1 500 et 5 000 m³/an soit moins de 3 % du volume total). En revanche, concernant l'eau par temps sec, le volume est compris entre 127 000 et 190 000 m³/an (mesuré en 2015). Ainsi, même si l'ouvrage a été mis en place pour le traitement des eaux de ruissellement par temps de pluie, une grande partie de l'eau amenée vers l'ouvrage est également de l'eau par temps sec. Ces eaux ne devaient initialement pas alimenter l'ouvrage mais leur déviation n'a pas pu être réalisée.

Pour finir, les eaux traitées par l'ouvrage sont rejetées dans les ruisseaux du parc puis dans la Seine. Il n'y a aucune infiltration souterraine.



Figure 2.1 : Situation globale du site d'étude (Source : Geoportail). L'ouvrage est au niveau de l'étoile bleue, le périphérique est représenté par un trait noir et la portion du périphérique captée par l'ouvrage correspond à la courbe bleue.

IV-2. L'ouvrage de gestion des eaux pluviales

L'ouvrage de gestion des eaux pluviales semi-centralisé est constitué de trois composantes.

La première est un **déversoir d'orage (DO)** réhabilité en **station de pompage**, avec son système de vannage et pompage. Initialement présent, il conduisait, avant l'aménagement de l'ouvrage, les eaux de ruissellement d'une partie du boulevard périphérique directement dans la Seine sans traitement, induisant alors des RUTP. Il s'agit d'un long conduit souterrain qui relie le boulevard périphérique et la Seine (Figure 2.2, en jaune). Le DO a été réhabilité afin de permettre dans un premier temps le stockage des eaux acheminées (Figure 2.2, 1 à 2), puis de les restituer par pompage (via une conduite de refoulement, Figure 2.2, 2 à 3) vers la deuxième composante de l'ouvrage. Un grillage grossier a été installé à l'arrivée de l'eau dans le DO afin de retirer une grande partie des macrodéchets (dégrillage). L'aval du DO (après le système de stockage/pompage) reste relié à la Seine pour récupérer, à la fin du processus, les eaux traitées et les rejeter dans la Seine.

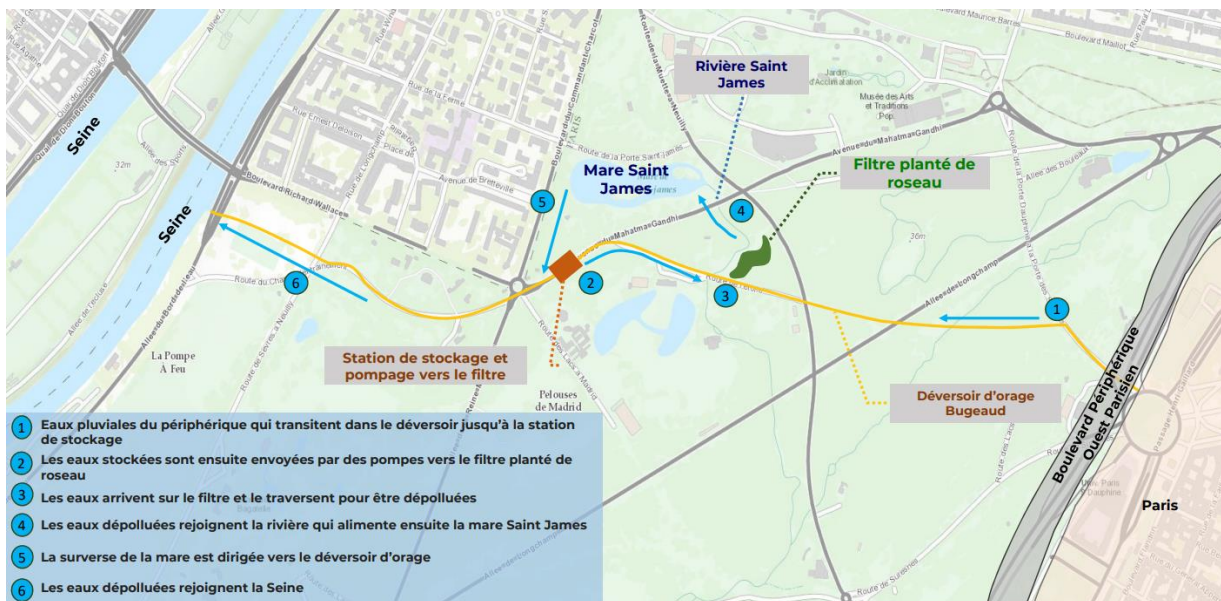


Figure 2.2 : Chemin emprunté par les eaux de ruissellement selon six étapes (1 à 6) (source : Life Adsorb, 2023).

La deuxième composante est l'objet d'étude de cette thèse, le **filtre planté de roseaux (FPR)** (Figure 2.2, 3 à 4), mis en place comme traitement des eaux de ruissellement. Initialement, un compartiment du filtre dédié à la gestion des eaux par temps sec devait être mis en place en plus, mais il n'a finalement pas été réalisé, les eaux claires arrivent alors dans le filtre dédié à la gestion des eaux de ruissellement. Ce filtre sera décrit plus en détail dans la section suivante (IV-3).

La dernière composante de cet ouvrage est l'ensemble des **aménagements mis en place pour acheminer les eaux traitées jusqu'à la Seine**. En sortie du filtre, un ouvrage enterré recueille les eaux traitées et les évacue dans la rivière Saint-James puis la Mare Saint-James du Bois de Boulogne (Figure 2.2, 4 à 5). Finalement, l'eau est acheminée jusqu'à l'aval de la station de vannage/pompage du DO encore connectée à la Seine pour s'y déverser.

Le chemin des eaux à travers cet ouvrage est donc résumé dans la Figure 2.2. Les eaux de ruissellement (et autres, décrites précédemment) sont acheminées au travers du DO jusqu'à la station de stockage. Elles sont ensuite pompées vers le FPR pour y être traitées. A leur sortie du filtre, les eaux sont évacuées dans la rivière adjacente au filtre qui alimente ensuite la mare Saint-James (Figure 2.3). Enfin, les surverses de la mare sont acheminées vers l'aval de la station de vannage/pompage du DO encore connectée à la Seine pour s'y déverser.



Figure 2.3 : Photographies de la sortie des eaux de l'ouvrage traitées vers la mare Saint-James. Le cercle rouge localise le conduit de sortie de l'eau (Crédit : J. Roux 2021).

IV-3. Le filtre planté de roseaux

Dans cet ouvrage, le FPR est l'objet d'étude de cette thèse. Il s'agit **d'un filtre planté de roseaux (FPR) à écoulement vertical** construit entre 2018 et 2019 sur une pelouse du Bois de Boulogne. Etant inclus dans le Projet européen Life Adsorb, cet ouvrage est un **prototype** visant à démontrer qu'il est possible de mettre en place un ouvrage semi-centralisé à grande échelle pour traiter des eaux de ruissellement fortement chargées d'une route à très fort trafic dans un réservoir de biodiversité classé et inscrit, le Bois de Boulogne. Ce FPR est innovant dans sa conception basée sur les meilleures pratiques recensées au niveau de l'approche, de l'insertion et de la technique. D'une part, **l'insertion paysagère** du FPR a été une priorité dans l'objectif de la préservation du patrimoine, du paysage et de la biodiversité. Ainsi, ce filtre a une forme sinueuse particulière, non rectiligne. D'autre part, l'innovation réside également dans la **technique** puisqu'une couche de matériau adsorbant a été insérée dans le filtre pour le traitement de la phase dissoute des polluants, connue pour être peu retenue dans des systèmes conventionnels. Ce matériau n'a encore jamais été expérimenté dans des FPR.

La Figure 2.4 montre le FPR vue de haut. Il est visible que ce FPR sinueux est divisé en deux compartiments. En effet, afin de pouvoir évaluer l'efficacité du matériau adsorbant, un filtre conventionnel (à gauche) a été mis en place en parallèle du filtre innovant (à droite) afin d'avoir une comparaison. La superficie totale des deux filtres est de 1 290 m², le conventionnel mesurant 680 m² et l'innovant 610 m².

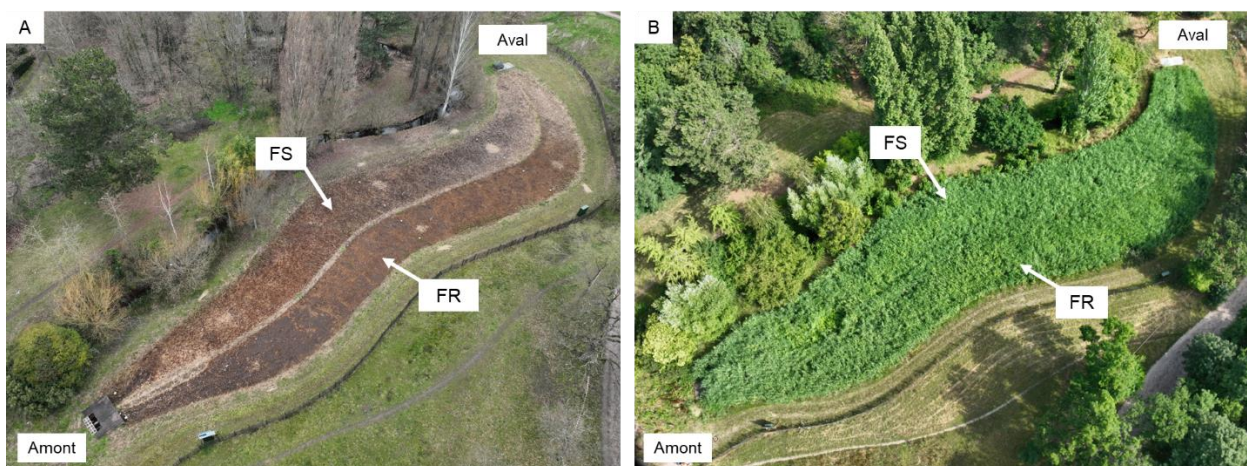


Figure 2.4 : Le filtre planté de roseaux vu de haut (drone) en hiver (A) et en été (B). En regardant vers l'aval, le filtre traditionnel à sable (FS) est à gauche et le filtre innovant avec du Rainclean (FR) est à droite (Crédit : Division Travaux et Environnement, Ville de Paris, 2023).

Les deux FPR ont un design similaire (Figure 2.5, vue en coupe) : leur profondeur totale est d'un mètre, le fond des FPR est recouvert d'une géomembrane en polyéthylène haute densité (PEHD) imperméable pour qu'aucune infiltration ne soit possible. Ils sont plantés de roseaux communs *Phragmites australis* (*P. australis*), avec environ 5 mottes/m² initialement plantées. Les deux FPR sont constitués des mêmes couches fonctionnelles (Tableau 2.1), avec de bas en haut une **couche de drainage** de 50 cm, puis une **couche de transition** de 10 cm et enfin une **couche de filtration** de 40 cm. La couche de drainage est constituée de graviers de granulométrie croissante vers le fond avec 20 cm de gravier de 10 à 20 mm de diamètre puis 30 cm de gravier de 20 à 40 mm de diamètre. Cette couche sert à drainer l'eau par le bas du filtre vers l'aval pour être évacuée. La couche de transition est constituée de graviers plus fins, de 2 à 4 mm de diamètre dans lesquels des aérations ont été installées pour ventiler naturellement le filtre. Enfin, la couche filtrante (appelée massif filtrant) est la couche d'intérêt de la thèse puisqu'il s'agit de la **zone de traitement effectif du filtre**.

C'est au niveau de la composition de cette dernière qu'il est possible de distinguer les deux FPR. Dans le filtre conventionnel (filtre à sable appelé **FS**), cette couche est composée uniquement de **sable** (de 0,4 à 2 mm de diamètre) tandis que dans le filtre innovant, une couche de **20 cm du substrat adsorbant** a été insérée entre deux couches de 10 cm du même sable. Il s'agit du **Rainclean® (Rc)**, un substrat industriel de la marque allemande *Funke* (*Funke Gruppe, 2020*) conçu pour filtrer et adsorber les polluants présents dans les eaux de ruissellement. Il est normalement utilisé seul, en contact direct avec l'eau, mais il a été décidé de l'inclure au sein du FPR notamment pour sa préservation dans le temps (filtre avec du Rainclean appelé **FR**). Le Rc est composé d'un mélange de grains de taille différente et de nature organique et minérale. Il contient notamment des carbonates, des fibres de coco, des pierres ponce, des zéolithes et du charbon activé. La taille de ses grains est comprise entre 0 et 5 mm et sa porosité est de 38 %. En plus de ses fonctions adsorbantes, ses propriétés permettent également le stockage de l'eau et la stabilisation du pH. Enfin, initialement absent, du **sédiment** se dépose à la surface du filtre avec le temps, issus des matières en suspension (MES) contenues dans les eaux filtrées au travers du filtre. Dans la suite de ce manuscrit, le sédiment peut être **inclus** dans le terme substrat, même s'il n'en est pas un au sens strict, pour plus de facilité d'écriture. Les **trois** types de **substrats** présents et étudiés dans le FPR sont donc : le sable, le Rainclean et le sédiment.

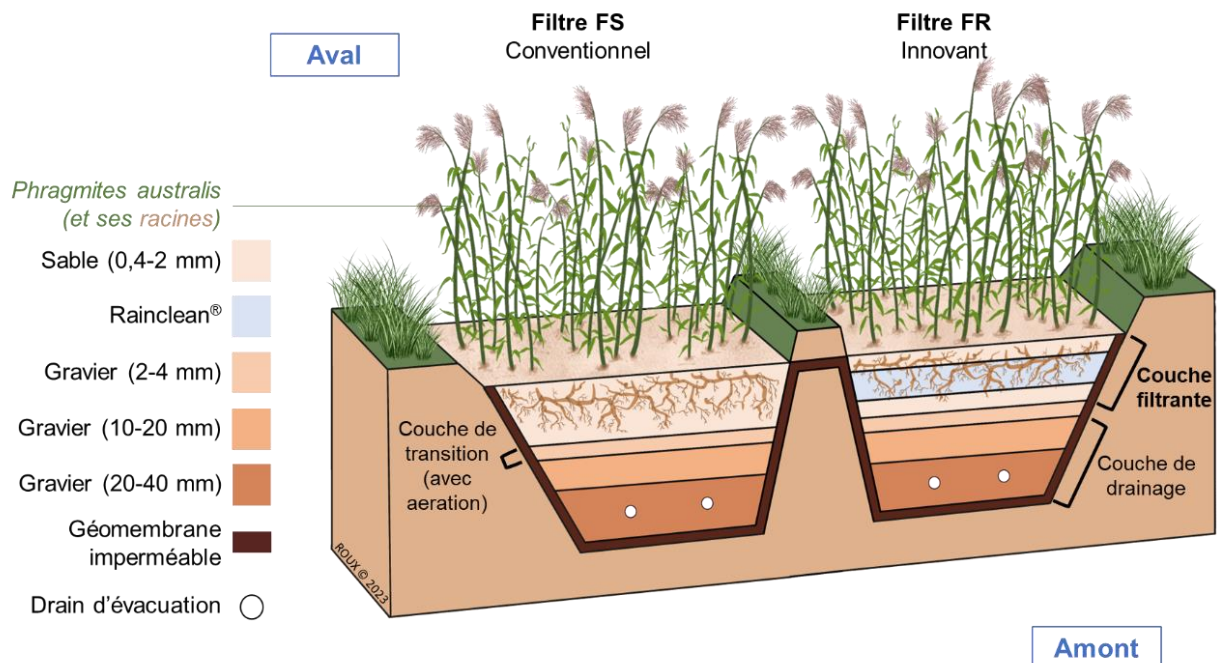


Figure 2.5 : Schéma du filtre planté de roseaux vu en coupe. A gauche le filtre traditionnel à sable (FS), à droite le filtre innovant avec du Rainclean (FR), plantés de *Phragmites australis*. Le sédiment n'est pas représenté car absent initialement.

Tableau 2.1 : Composition du filtre planté de roseaux subdivisé en deux filtres, FS et FR.

| Filtre | | FS | FR |
|------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Type | | Conventionnel | Innovant (adsorbant) |
| Roseaux (6500 plantes) | | <i>Phragmites australis</i> | <i>Phragmites australis</i> |
| Couche filtrante | Sable fin | 40 cm | 10 cm |
| | Rainclean | / | 20 cm |
| | Sable fin | / | 10 cm |
| Couche de transition | Gravier avec aération | 10 cm | 10 cm |
| Couche de drainage | Gravier | 20 cm | 20 cm |
| | Gravier | 30 cm | 30 cm |

IV-4. Alimentation en eau du filtre

IV-4.1. Principe de fonctionnement du déversoir d'orage

Dans un premier temps, il est important de noter que les deux FPR ne sont **pas alimentés en même temps** (sauf en cas de grandes pluies). Tous les **29 jours**, l'alimentation en eau bascule d'un FPR à un autre. Il y a donc un filtre prioritaire chaque mois, qui reçoit la grande majorité de l'eau, tandis que l'autre se repose. Des mesures in situ ont toutefois révélé que le filtre non prioritaire reçoit tout de même un peu d'eau en raison de fuites d'eau d'un FPR à l'autre au niveau de la zone d'alimentation en eau.

Puis, le fonctionnement de l'alimentation du FPR en eau est particulier. Tout d'abord, il y a deux modes de fonctionnement : le mode **temps sec** et le mode **temps de pluie** (avec deux sous-modes selon l'intensité des précipitations). Le filtre est alimenté dans les deux cas en eau, mais de façon différente. La Figure 2.6A permet de les décrire. **Deux paramètres** sont suivis afin de déterminer le mode d'alimentation. Le premier est la **hauteur d'eau** dans la station de pompage du DO à laquelle est associé un **volume d'eau**. Le second est le **temps**, car pour définir le mode d'alimentation, c'est la hauteur d'eau accumulée au bout d'un temps défini (cycle) qui est mesurée.

Tout d'abord, un **premier cycle** est lancé, le cycle du **remplissage de la bêche de stockage** du DO (d'un volume total de stockage de 3 000 m³), défini sur un laps de temps de **130 min**. En mode **temps sec** (cas 1, Figure 2.6A), le DO va se remplir doucement d'eaux claires. Au bout du premier cycle défini, si la valeur seuil de 50 m³ (correspondant à la hauteur d'eau de 28,6 mNGF, défini comme le seuil maximal pour le temps sec : "TR niveau maxi temps sec" sur la figure 6A) n'est pas dépassée, le mode temps sec se déclenche. La pompe se déclenche alors pour alimenter le FPR en eaux claires lorsque les 50 m³ ont été accumulés. Cependant, si les 50 m³ sont accumulés avant le temps final de 130 min, le DO passe alors en mode **temps de pluie** (cas 2, Figure 2.6A). Dans ce cas, le DO se remplit alors jusqu'à la valeur seuil de 300 m³ (hauteur d'eau de 29,15 mNGF, défini comme seuil maximal de temps de pluie : "TR niveau pluie" sur la Figure 2.6A), et une fois ce seuil atteint, la pompe peut se déclencher pour alimenter le FPR en eaux de ruissellement (mélangé avec des eaux claires, qui arrivent continuellement).

Vient ensuite le **deuxième cycle (cycle de vidange du DO)**, la vidange de l'eau accumulée dans le DO, appelée la bêche. Ce cycle est défini sur **160 minutes**. En mode **temps sec**, les 50 m³ sont vidangés vers le FPR prioritaire durant ce laps de temps, et atteignent le seuil minimum défini (hauteur d'eau de 27,95 mNGF soit entre 0 et 10 m³, "TR niveau arrêt pompes" sur la Figure 2.6A), arrêtant alors le pompage. Cependant, si au bout de 160 minutes le seuil minimum n'est pas atteint, cela traduit le fait que des précipitations ont eu lieu pendant ce laps de temps (débit entrant > débit de pompage par temps sec). Le DO passe alors en mode **temps de pluie** (cas 4, Figure 2.6A) : la pompe s'arrête, et l'eau est accumulée dans le DO jusqu'à atteindre le seuil de temps de pluie (300 m³). Une fois ce seuil atteint, la vidange peut reprendre. Si le DO est passé en mode temps de pluie lors du premier cycle, les 300 m³ sont directement vidangés vers le FPR prioritaire jusqu'à atteindre le seuil minimum. Il y a donc deux façons de passer en mode temps de pluie dans le DO, pendant le premier ou le second cycle.

Un cas particulier peut arriver lors de fortes pluies, le mode **temps de grande pluie** (cas 3, Figure 2.6A). Dans un premier temps, lorsque les 300 m³ sont atteints, la vidange de la bache débute en mode temps de pluie. Cependant, le débit arrivant (fortes pluies) dépassant le débit sortant (vidange), l'eau s'accumule encore dans le DO. Un autre seuil a alors été défini, de **1 000 m³** (correspondant à la hauteur d'eau de 29,95 mNGF, "TR niveau grande pluie" sur la Figure 2.6A) qui permet de passer en mode temps de grande pluie une fois atteint. Le 2ème filtre, non prioritaire est alors également alimenté. Enfin, le volume maximal de stockage est atteint malgré le pompage (3 000 m³), une surverse permet d'évacuer le trop plein directement dans la Seine, sans traitement. A ce jour, un seul cas de surverse de ce type a été constaté au mois d'août 2022.

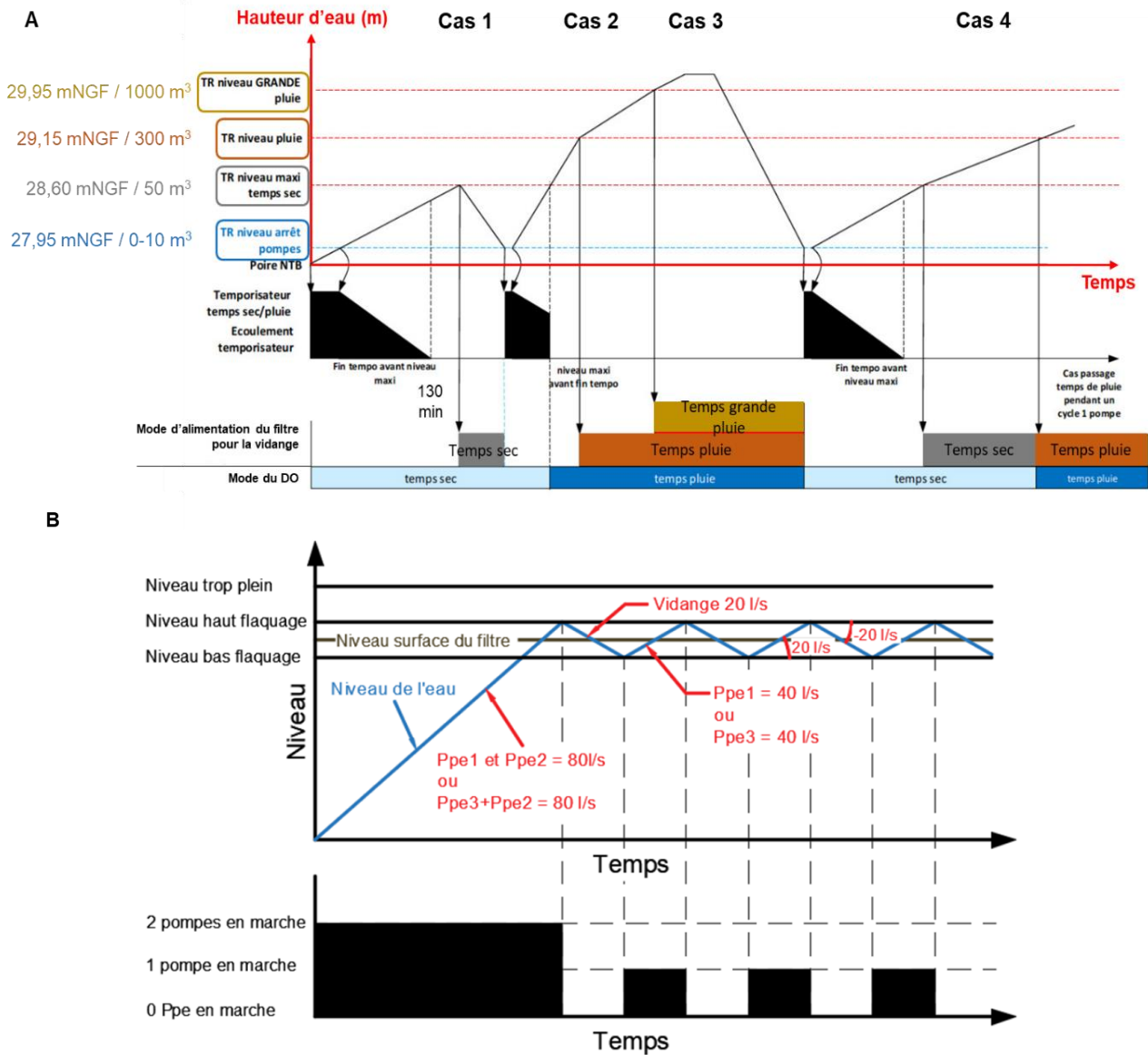


Figure 2.6 : Principe du fonctionnement hydraulique du filtre. **A :** Principe de fonctionnement dans le DO, selon les hauteurs d'eau accumulées et le temps. Les modes du DO et d'alimentation du filtre sont détaillés en bas du graphique. **B :** Principe de fonctionnement de l'alimentation du filtre en eau par temps de pluie. Le graphique représente la hauteur d'eau dans le filtre selon le temps (Payet et al., 2023).

IV-4.2. Alimentation du filtre par le déversoir d'orage

Lorsque le mode **temps sec** s'est déclenché et que la vidange a commencé, le FPR prioritaire est alors alimenté en eau à un débit de **40 L/s** (1 pompe utilisée sur 3). Avant le 5 avril 2022, le débit était de 20 L/s, il a été modifié pour améliorer l'alimentation. Ce débit est constant jusqu'à vidange

complète de la bâchée, lorsque le seuil minimal est atteint. Par temps sec, entre 4 et 5 bâchées (de 50 m³) sont provoquées par jour environ.

Concernant le mode **temps de pluie**, lorsque la vidange est déclenchée, **2 pompes** se lancent pour alimenter le FPR prioritaire, à un débit de **80 L/s**, jusqu'à **saturation et flaquage** du filtre (lame d'eau de 5 cm au-dessus de la surface du filtre) (Figure 2.6B, "niveau haut flaquage" atteint). Le pompage s'arrête alors pour que le FPR se vidange à un **débit de sortie de 20 L/s** et atteigne le niveau de "bas flaquage". Une fois ce niveau bas atteint, **1 pompe** se relance alors pour maintenir un débit d'alimentation de **40 L/s** afin de maintenir la saturation du filtre. Une alternance de pompage et arrêt de pompage est alors mise en place (Figure 2.6B) jusqu'à la vidange complète du DO (seuil "TR arrêt pompes" atteint (Figure 2.6B), afin de maintenir le niveau de l'eau entre le niveau bas et haut de flaquage. Finalement, le DO repasse en mode temps sec pour lancer un nouveau cycle d'accumulation de l'eau.

Enfin, concernant le mode **temps de grande pluie**, lorsqu'il est déclenché, le FPR non prioritaire est alors alimenté à 80 L/s si deux pompes sont disponibles, sinon à 40 L/s (une seule pompe) en plus du FPR prioritaire. Il s'agit de l'unique moment où les deux FPR sont alimentés en même temps. Puis, les deux FPR sont maintenus à 40 L/s (avec la même alternance pompage/arrêt du pompage qu'en temps de pluie) jusqu'à vidange complète (Figure 2.6B).

IV-4.3. Suivi hydraulique et volumes d'eau écoulés dans le filtre

Afin de monitorer l'eau au sein des deux FPR, différents appareils ont été placés lors de sa construction. Des **piézomètres** ont été installés en différents points des deux FPR pour mesurer le niveau d'eau dans le filtre. Un piézomètre a été placé en amont, centre et aval de chaque filtre, il y a donc 6 piézomètres au total. Des **plaques poreuses** en nylon et en verre borosilicaté ont été installées avant et après la couche de Rainclean dans le filtre FR uniquement afin de récupérer les eaux interstitielles. Ces plaques ont été placées en fin de zone centrale du filtre, avec 4 plaques d'un même matériau (2 au-dessus et 2 au-dessous du Rainclean), soit 8 au total. Des **sondes TDR** ont également été installées afin de mesurer l'humidité à différentes profondeurs, correspondant aux différents substrats (sable de surface, Rainclean et sable profond pour le filtre FR, ou bien les différentes profondeurs de sable pour le filtre FS). Les sondes ont été placées dans les deux FPR, à 3 profondeurs et en amont, centre et aval des filtres. Il y a donc 24 sondes au total. Enfin, des mesures du **débit** et de la **qualité de l'eau** (pH, conductivité, turbidité, potentiel redox) en entrée et sortie du filtre sont également réalisées.

Le FPR a été alimenté en eau de ruissellement à partir du **16 février 2021**. Avant, seules des eaux d'arrosage de la Ville de Paris (eau du réseau non potable) alimentaient les deux FPR par l'amont, et des tests d'alimentation par temps de pluie avaient été réalisés. Cependant l'enregistrement des données n'a débuté que le **1^{er} mai 2021**.

Les filtres **FS** et **FR** ont ainsi reçu un total de **155 720** et **172 990 m³** d'eau respectivement (par temps sec et de pluie), entre le 01/05/2021 et le 05/04/2023, dernière date de prélèvements pour cette thèse.

IV-5. Evolution visuelle du filtre dans le temps

La Figure 2.7 montre le filtre, vue de l'amont en regardant vers l'aval (la planche en bois correspond à la zone d'alimentation du filtre). On observe le FPR un an après la fin de sa construction (septembre 2020) puis le FPR entre 2020 et 2023 à différentes saisons. La densité de végétation a fortement augmenté avec le temps, avec une phase de dormance en hiver chaque année.

Au cours de cette thèse, le filtre a été suivi de septembre 2020 à avril 2023, pendant 2 ans et demi environ. Son étude sera poursuivie par les autres acteurs du projet.

Les *P. australis* du filtre ont été **faucardés deux fois** au cours du suivi, une première fois en **février 2022** et une seconde fois en **février 2023**. La totalité des parties aériennes des roseaux (tiges et feuilles) a été coupée en laissant environ 10 cm de hauteur de tiges pour limiter la moisissure des tiges en hiver avec l'arrivée d'eau.



Septembre 2020



Mars 2021 (travaux d'étanchéité entre les deux filtres)



Septembre 2021



Avril 2022 (après le faucardage des roseaux)



Octobre 2022



Février 2023



Avril 2023 (après le faucardage des roseaux)

Figure 2.7 : Photographies de l'évolution du FPR dans le temps, prises à chaque fois de l'amont en regardant vers l'aval. Le ponton en bois correspond à la zone d'alimentation du filtre. Le filtre FS est sur la gauche et le filtre FR est sur la droite. Sur ces photographies, le temps s'écoule de haut en bas et de gauche à droite (Crédit : J. Roux 2020, 2021, 2022, 2023).

V - Campagnes de prélèvement

Pour caractériser le FPR dans son ensemble et son évolution dans le temps et l'espace, trois campagnes de prélèvements du FPR ont eu lieu entre 2020 et 2022 dans l'ensemble du filtre, en septembre-octobre 2020, septembre-octobre 2021 et septembre-octobre 2022. Les résultats seront présentés dans la Partie XI.

La **campagne T0** a eu lieu du 1 au 4 septembre 2020, avant que l'alimentation en eau de ruissellement ne débute. Puis, la **campagne T1** a eu lieu du 21 au 22 septembre et les 7 et 19 octobre 2021, un an après la première campagne, mais 7 mois après le début de l'alimentation du FPR en eaux de ruissellement (février 2021). Enfin, la **campagne T2** a eu lieu le 27 septembre et 27 octobre 2022, deux ans après la campagne T0, et 19 mois après le début de l'alimentation du FPR (1 an et 7 mois). Les campagnes T1 et T2 ont été réalisées sur deux mois distincts en raison de l'alimentation par alternance des FPR (prélèvement dans le filtre non alimenté). Quelques autres campagnes ont été réalisées pour compléter ces prélèvements lors de la campagne T2 car la végétation trop importante limitait certains prélèvements.

Les différentes **informations hydrauliques** (volumes totaux écoulés dans chaque FPR à chaque campagne, volumes écoulés le mois précédant chaque campagne, temps de ressuyage entre la fin de l'alimentation en eau et la campagne) et **météorologiques** (températures et précipitations des 7 jours précédant les campagnes) sont synthétisées en Annexes 2-2 et 2-3.

Enfin, pour l'étude du devenir des micropolluants organiques (MPO) au travers des essais de biodégradation au laboratoire, une campagne unique a été réalisée le 19 avril 2022, au printemps. Les résultats seront présentés dans la Partie XII.

V-1. Méthodologie de prélèvement des substrats

Des échantillons des différents substrats présents dans la couche filtrante ont été récupérés pour la caractérisation du FPR dans son ensemble ainsi que son évolution dans le temps et l'espace. La stratégie de prélèvement pour obtenir les échantillons composites, décrite ci-dessous, était similaire pour les trois campagnes.

V-1.1. Délimitation des 3 zones du filtre

Dans un premier temps, les deux filtres ont été séparés en trois parties : une zone **amont**, une zone **centre** et une zone **aval**, afin de prendre en compte les niveaux de sollicitation en eaux différents, l'alimentation étant réalisée en amont.

Au **T0**, l'eau de ruissellement n'alimentait pas encore le filtre, la surface entière montrait donc du sable en surface (Figure 2.8A). La délimitation a alors été réalisée selon la zone **théorique** sollicitée par le FPR par temps de pluie (80 m²). La zone amont représentait cette surface (20 m de long sur le filtre), et pour les deux zones suivantes, la surface restante a été divisée par deux pour avoir deux zones de même surface environ. Ainsi, la zone amont mesurait 104 m² et 84 m², la zone centrale mesurait 325 et 240 m² et la zone aval mesurait 254 et 285 m² dans le filtre FS et FR respectivement.

Au **T1 et T2**, les zones ont été définies selon **l'état de surface du filtre** en raison de l'accumulation de sédiments à la surface avec le temps. En effet, en **amont**, une couche continue et centimétrique de sédiment était présente, tandis qu'au **centre**, une couche millimétrique laissant entrevoir encore le sable en dessous était présente (couche de dépôt discontinue). Enfin, en **aval** du filtre, aucun dépôt de sédiment n'était visible au T1, et très peu de sédiment s'était déposé au T2 (Figure 2.8B). Ainsi, lors de la campagne T1, la zone amont avait une surface de 177 et 143 m², la zone au centre mesurait 349 et 238 m² et la zone aval avait une surface de 157 et 229 m² dans le filtre FS et FR respectivement. Lors de la campagne T2, la zone amont avait une surface de 287 et 197 m², la zone au centre mesurait 221 et 171 m² et la zone aval avait une surface de 175 et 242 m² dans le filtre FS et FR respectivement.

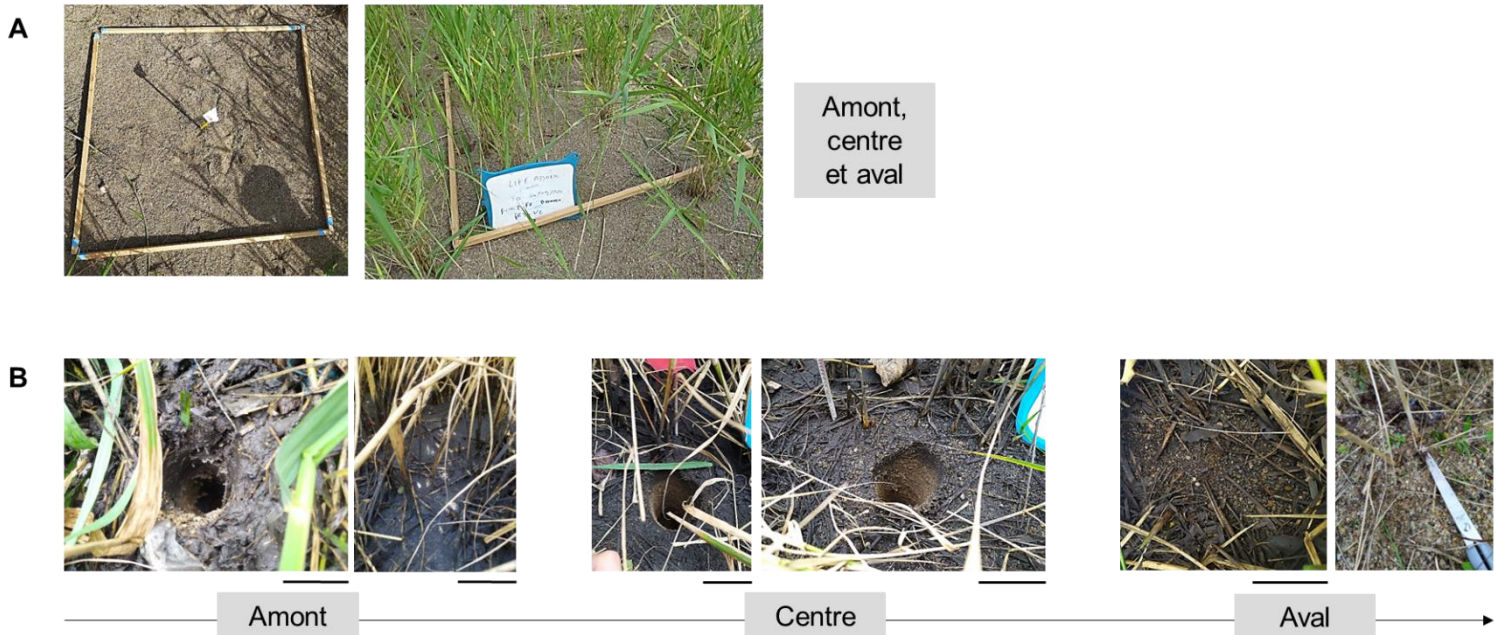


Figure 2.8 : Photographies de l'évolution de l'état de surface du filtre selon la localisation horizontale (amont, centre et aval). A : lors de la campagne T0 ; B : lors des campagnes T1 et T2. L'échelle est représentée par les traits noirs, qui correspondent à 6 cm sur les photos (Crédit : J. Roux 2020, 2021, 2022).

Finalement, cette stratégie a permis de prendre en compte l'évolution des zones des deux FPR avec le temps, donnant alors une vision **dynamique** du filtre. Les positions géographiques des délimitations des zones ont été relevées à l'aide d'un GPS différentiel (DGPS *Trimble Geo 7x*). La Figure 2.9 montre l'évolution des trois zones avec le temps.

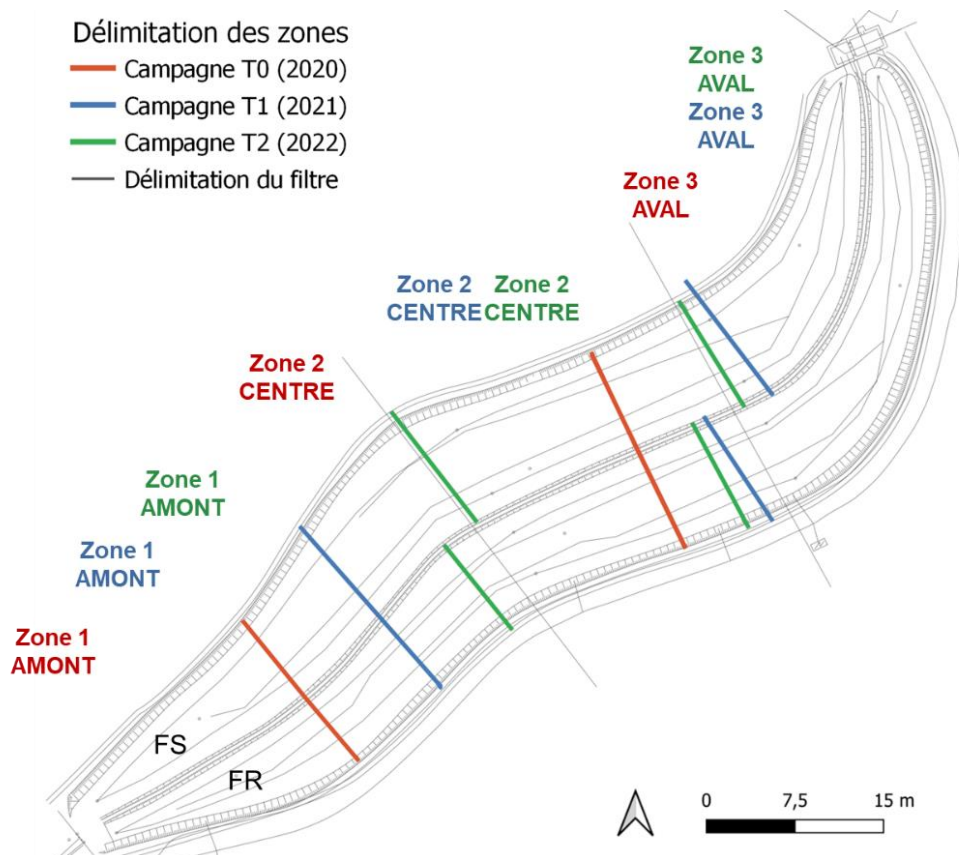


Figure 2.9 : Carte de l'évolution du zonage du filtre (amont-centre-aval) entre les trois campagnes de prélèvement, T0 (2020), T1 (2021) et T2 (2022). Le filtre FS est sur la gauche et le filtre FR sur la droite.

V-1.2. Prélèvement d'échantillons composites

Concernant le prélèvement des échantillons de substrats, l'objectif était de choisir plusieurs points de prélèvements représentatifs au sein de chaque zone, pour ensuite prélever des carottes sur toute la profondeur de la couche filtrante des deux FPR.

Pour la zone **amont**, la plus sollicitée, **8 points** de prélèvement étaient définis (6 lors de la campagne T0 car la variabilité était moins importante) et pour les **deux autres zones**, **6 points** de prélèvement étaient définis. Les points de prélèvement étaient réalisés le long de l'axe des deux filtres, chaque point étant à peu près séparés d'une même distance. Au niveau de la zone 1, plus petite, des points de prélèvement côte à côte étaient réalisés. Lors de la campagne **T0**, les points de prélèvements étaient définis le long de l'axe **central** du filtre ; au **T1**, les points étaient légèrement décalés vers la rive **gauche** du filtre ; au **T2**, les points étaient légèrement décalés vers la rive **droite**. Cette stratégie a été adoptée afin d'éviter de prélever deux fois au même endroit entre deux campagnes. Tous les points de prélèvement réalisés au cours des trois campagnes ont été géoréférencés au DGPS et sont représentés sur la Figure 2.10.

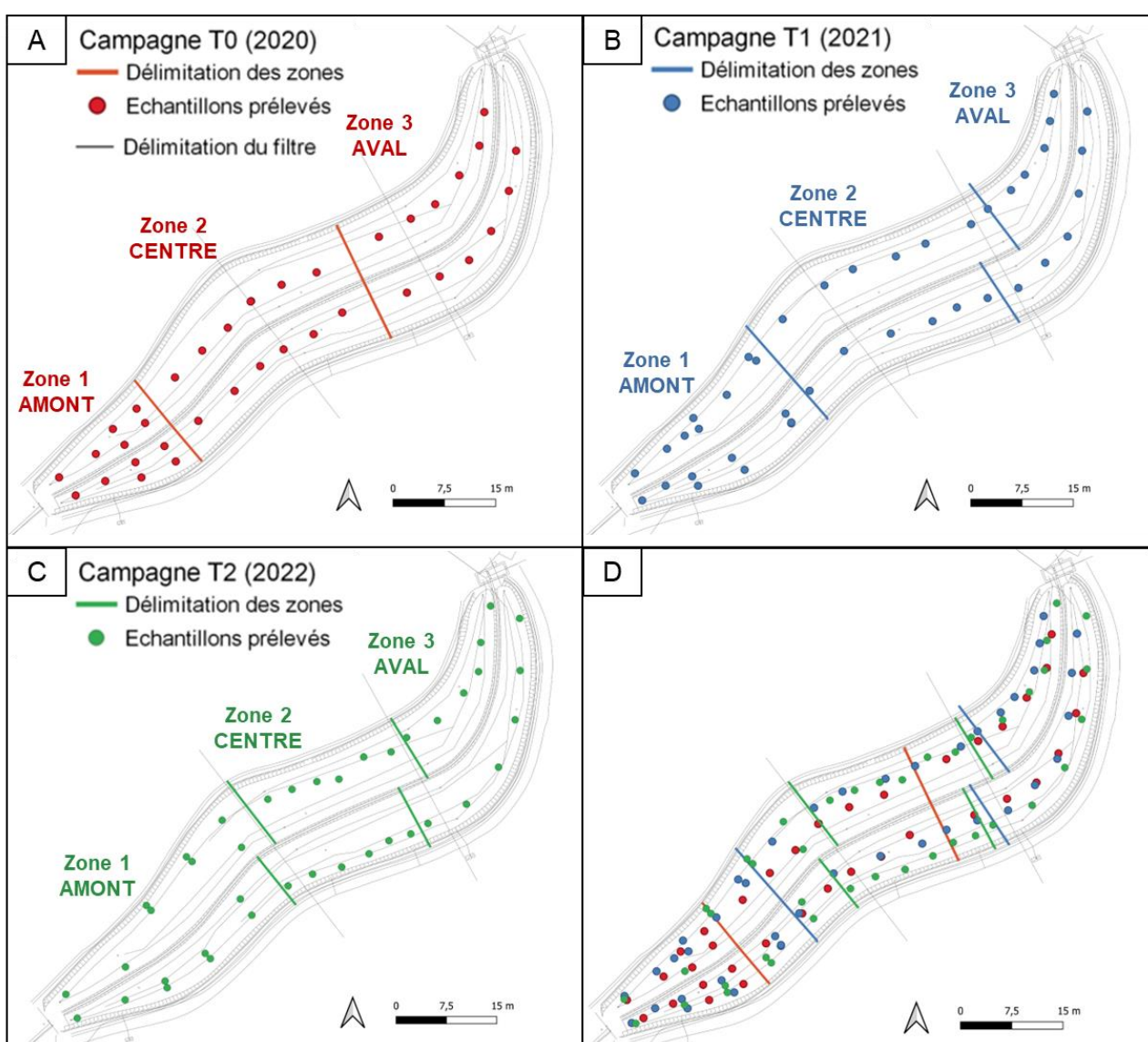


Figure 2.10 : Cartes de la localisation des points de prélèvement des échantillons de substrats au cours des différentes campagnes de prélèvement. A : Campagne T0. B : Campagne T1. C : Campagne T2. D : Les trois campagnes regroupées.

Une fois les points de prélèvement définis dans chaque zone, des **carottes** ont été prélevées dans la **couche filtrante** des deux FPR (0 à 40 cm de profondeur plus le sédiment à partir de la campagne T1). Pour cela, un carottier cylindrique fabriqué par l'INRAE de 6 cm de diamètre a été utilisé, permettant de prélever des substrats granulés. Deux exemples de carottes récupérées sont représentés sur la Figure 2.11A et B.



Figure 2.11 : Photographies du carottier et des carottes réalisées dans les deux filtres. La hauteur possible de prélèvement est de 40 cm. B : Photographie d'un exemple de carotte récupérée au niveau du filtre FS ; C : Photographie d'un exemple de carotte récupérée au niveau du filtre FR (Crédit : J. Roux, 2021).

Pour chaque carotte récupérée, une **subdivision** de celle-ci était ensuite réalisée en tranches, selon les substrats présents dans chaque FPR (Figure 2.12) : le **sédiment** si présent (au-dessus de la surface des filtres, aux campagnes T1 et T2), le **sable de surface** (0-10 cm), le **Rainclean** si présent (10-30 cm) et le **sable profond** (30-40 cm ou 10-40 cm pour le filtre FR et FS respectivement). Chaque couche définie d'une **même zone** (amont, centre ou aval) était alors placée dans un bac en inox différent. Enfin, une fois les 6 ou 8 points de prélèvements réalisés et séparés, chaque bac est alors **homogénéisé** à l'aide de cuillères en inox.

Cela a finalement permis de récupérer des **échantillons composites, représentatifs** :

- **D'une campagne de prélèvement** : T0, T1 ou T2
- **D'un filtre** : FS ou FR
- **D'une zone** : amont, centre ou aval
- **D'une profondeur** : sédiment, sable de surface, Rainclean, sable profond pour le filtre FR ; sédiment, sable de surface, sable profond pour le filtre FS,

permettant le suivi **dynamique** des deux FPR dans le temps et l'espace : évolution **temporelle**, évolution selon la localisation **horizontale** et évolution selon la localisation **verticale**.

Il est visible que le **nombre de couches est différent entre les deux filtres**, la couche filtrante est plus subdivisée dans le filtre FR (4 couches contre 3 dans le filtre FS). Cela est majoritairement lié aux contraintes budgétaires du projet, qui ont conduit à garder la profondeur 10 à 40 cm en un seul échantillon dans le filtre FS. Pour séparer ce sable de surface du profond, 10 cm de sable étaient alors mesurés à l'aide d'une règle.

Pour chaque point de prélèvement, les informations suivantes étaient **relevées** : présence/absence de sédiment et épaisseur de cette couche, présence/absence d'une couche de transition entre le sédiment et le sable de surface et épaisseur de cette couche, épaisseur totale de la couche de sable de surface, épaisseur de la couche de Rainclean lorsqu'elle était présente, profondeur maximum où les racines sont présentes, profondeur du trou. De plus, après chaque campagne, chaque

point de prélèvement était **rebouché** une fois les prélèvements réalisés avec du **substrat neuf**, en respectant les épaisseurs de couches afin de conserver la structure de chaque filtre.

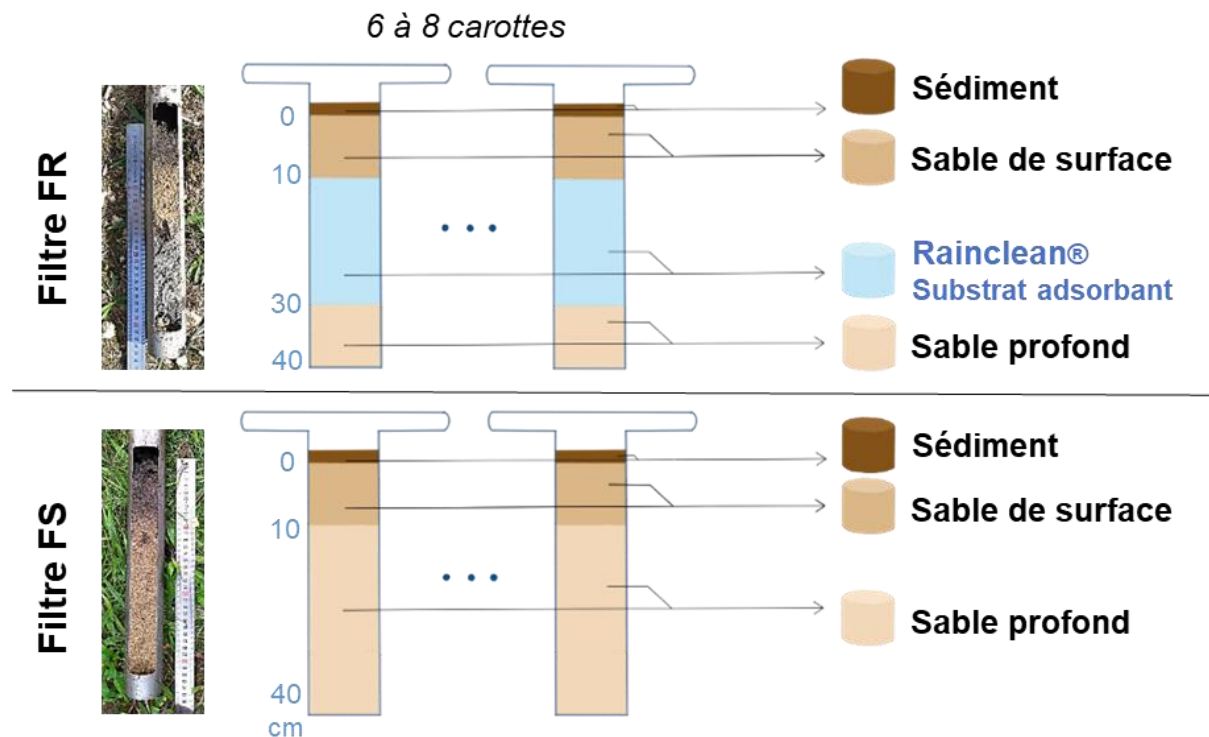


Figure 2.12 : Schéma du principe de réalisation des échantillons composites dans une zone. Cette homogénéisation des carottes est répétée pour chaque zone.

Quelques **précisions** peuvent être apportées concernant ces prélèvements.

Sédiment : Le sédiment prélevé avec le carottier ne suffisait **pas à obtenir assez de masse** pour toutes les analyses. Ainsi, en plus de ces prélèvements, la surface de la zone autour de chaque point de prélèvement était doucement raclée pour récupérer plus de matière.

Sable de surface : D'une part, lors de la campagne T0 dans le filtre FS, toute la couche de sable (40 cm) a été homogénéisée en **un seul échantillon** (pas de différenciation du sable de surface et profond) car l'hypothèse de départ était que le filtre était homogène au temps initial et également pour limiter le nombre d'échantillon et donc d'analyses. D'autre part, à partir de la campagne T1, la partie **supérieure** de la couche de **sable de surface** s'est **enrichie** d'un dépôt noir de sédiment (couche visible sur la Figure 2.11A et B). Il s'agit d'une couche de transition entre le sédiment et le sable de surface, composée de sable dont les pores ont été progressivement remplis par les MES des eaux de ruissellement. Pour les échantillons composites, cette couche a été **inclue** au reste du sable de surface afin de maintenir une profondeur de couche constante avec le temps.

Sable profond : Dans le filtre FR, il a été **difficile de prélever le sable profond** car le sable sous le Rainclean n'adhérait plus au carottier, donc restait dans le trou. Pour la **campagne T0**, tous les échantillons de sable profond récupérés dans les trois zones ont été homogénéisés pour obtenir un échantillon composite du sable profond représentatif des zones amont, centre et aval. Pour la **campagne T1**, la couche de sable profond a été prélevée en raclant le fond des trous permettant alors une masse suffisante dans la zone amont. Le sable profond des deux autres zones a été homogénéisé pour obtenir un échantillon composition représentatif des zones centre et aval. Enfin, pour la **campagne T2**, afin de séparer les trois zones, le sable profond a été raclé dans chaque zone pour récupérer suffisamment de masse de sable profond.

En rassemblant chaque prélèvement en échantillons composites homogènes et représentatifs de leur profondeur- zone -filtre-campagne, plusieurs échantillons ont ainsi été obtenus. A la campagne **T0, 10 échantillons composites** ont été récupérés (3 échantillons dans le filtre FS, 7 échantillons dans le filtre FR). Lors de la campagne **T1, 16 échantillons composites** ont été récupérés, 7 dans le filtre FS et 9 dans le filtre FR. Enfin, lors de la campagne **T2, 17 échantillons composites** ont été récupérés, 7 dans le filtre FS et 10 dans le filtre FR (Tableau 2.2). Une photographie de chaque substrat est présentée dans la Figure 2.13, et la nomenclature détaillée de chaque échantillon de substrat composite récupéré est fournie en Annexe 2-4.

Tableau 2.2 : Nombre total d'échantillons composites récupérés lors des trois campagnes T0, T1 et T2 et nomenclature associée selon leurs localisations horizontales (zone) et verticales (profondeur). Le nom de chaque échantillon est donné sans l'information de la campagne ; leur nom complet présente donc à la fin l'indication T0, T1 ou T2 (Annexe 2-4). Les cellules ayant la même couleur correspondent à un même échantillon récupéré ; Am : amont ; C : centre ; Av : aval ; Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond.

| Filtre | Zone du filtre | Profondeur (cm) | Substrat | T0 | T1 | T2 | Nomenclature | |
|-----------------------------------|----------------------|-----------------|------------------|------------------|-----------|-----------|------------------|------------------|
| Filtre conventionnel : FS | Amont | +x - 0 | Sédiment | Absent | X | X | FS-Sdt-Am | |
| | | 0-10 | Sable de surface | X | X | X | FS-Ss-Am | |
| | | 10-40 | Sable profond | X | X | X | FS-Sp-Am | |
| | Centre | 0-10 | Sable de surface | X | X | X | FS-Ss-C | |
| | | 10-40 | Sable profond | X | X | X | FS-Sp-C | |
| | | Aval | 0-10 | Sable de surface | X | X | X | FS-Ss-Av |
| | 10-40 | | Sable profond | X | X | X | FS-Sp-Av | |
| | Filtre innovant : FR | Amont | +x - 0 | Sédiment | Absent | X | X | FR-Sdt-Am |
| | | | 0-10 | Sable de surface | X | X | X | FR-Ss-Am |
| | | | 10-30 | Rainclean | X | X | X | FR-Rc-Am |
| 30-40 | | | Sable profond | X | X | X | FR-Sp-Am | |
| Centre | | 0-10 | Sable de surface | X | X | X | FR-Ss-C | |
| | | 10-30 | Rainclean | X | X | X | FR-Rc-C | |
| | | 30-40 | Sable profond | X | X | X | FR-Sp-C | |
| Aval | | 0-10 | Sable de surface | X | X | X | FR-Ss-Av | |
| | | 10-30 | Rainclean | X | X | X | FR-Rc-Av | |
| | | 30-40 | Sable profond | X | X | X | FR-Sp-Av | |
| Nombre total d'échantillon | | | | 10 | 16 | 17 | | |

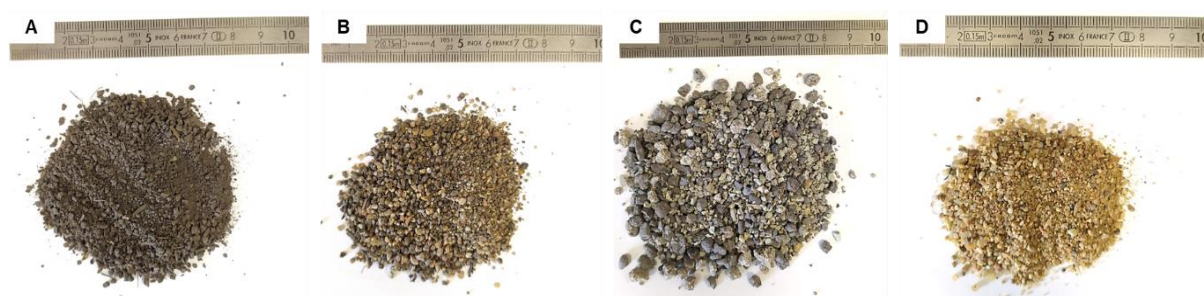


Figure 2.13 : Les différents types de substrats récupérés sur site. A : sédiment. B : sable de surface. C : Rainclean. D : sable profond (Crédit : J. Roux, 2023).

Pour finir, une fois ces échantillons obtenus, ils ont été séparés en sous-échantillons (différents contenants selon les analyses ciblées). Ainsi, un même échantillon était subdivisé en **5 parts** (grammage différent selon les masses nécessaires aux analyses) pour :

- Les analyses physico-chimiques
- Les analyses microbiologiques (deux flacons)

- Les analyses des micropolluants organiques (MPO)
- Les analyses des éléments traces métalliques (ETM).

V-2. Prélèvements complémentaires de substrats

V-2.1. Analyses microbiologiques à une échelle plus faible

En plus des échantillons composites, pour mieux évaluer la **variabilité spatiale**, nous avons décidé de garder une petite partie de chaque échantillon **unique** de **sédiment**, **couche de transition** sédiment-sable et **sable de surface**. Ils ont été récoltés et mis à part avant l'homogénéisation de tous les points de prélèvement d'une zone. Ils ont ensuite été placés dans des petits piluliers plastiques en vue d'analyses. Avec 6 à 8 points de prélèvement * 3 zones * 2 ou 3 profondeurs (avec ou sans sédiment selon les zones), **72 échantillons uniques** ont été récupérés lors de la campagne **T0** et **96** lors de la campagne **T1 et T2** (avec la moitié dans chacun des deux FPR). Cependant, par manque de temps, ils n'ont pas pu être entièrement caractérisés, et ne seront donc pas discutés par la suite.

V-2.2. Mesure de la masse volumique

Pour évaluer la **masse volumique apparente** et son évolution dans le temps et l'espace, des prélèvements supplémentaires ont été réalisés à chaque campagne. A l'aide d'un porte cylindre et de cylindres calibrés, des volumes précis des différents substrats ont été récoltés ailleurs que dans les points de prélèvement : sédiment lorsqu'il était présent, sable de surface, Rainclean et sable profond.

Au cours de la **campagnes T0**, des cylindres du sable à 10 cm de profondeur pour le filtre FS (représentatifs de l'ensemble de la couche filtrante) et des cylindres de sable de surface et Rainclean à 5 cm et 15 cm respectivement étaient réalisés dans le filtre FR dans les trois zones du filtre, avec deux répétitions par zone. Lors de la **campagne T1**, des cylindres de sable de surface et profond ont été prélevés à 5 cm et 15 cm dans le filtre FS et des cylindres de sable de surface, Rainclean et sable profond ont été réalisés à 5cm, 15 cm et 35 cm de profondeur dans le filtre FR, avec trois répétitions à chaque fois, mais uniquement dans la zone amont. Le sédiment n'était pas assez épais pour remplir le cylindre. Enfin, pendant la **campagne T2**, le sédiment, sable de surface, Rainclean et sable profond ont été prélevés dans des cylindres aux mêmes profondeurs que lors de la campagnes T1 pour les filtres FS et FR. Il y avait 3 répétitions réalisées pour chaque zone.

Les prélèvements ont été réalisés en parallèle des prélèvements composites pour les campagnes T0 et T1. Pour la campagne T2, la biomasse végétale trop élevée a rendu ces prélèvements complexes. Ils ont alors été réalisés le 13 février 2023, lorsque la végétation n'était plus présente (faucardée, cf V-3).

V-2.3. Cartographie fine de l'accumulation de sédiment et de sa contamination en éléments traces métalliques

En complément des échantillons composites, des prélèvements à **l'échelle spatiale plus fine** ont été réalisés sur le **sédiment** uniquement aux campagnes **T1 et T2** (pas de sédiment au T0) afin de cartographier la répartition spatiale fine du dépôt de sédiments et de ses teneurs en ETM. Pour cela, des petites quantités de sédiment (50 g environ) ont été prélevées dans des piluliers dans la zone **amont** de chaque FPR uniquement (seule zone possédant une couche de sédiment).

La zone amont a été subdivisée en tronçons perpendiculaires à la longueur du FPR et de même épaisseur environ ; il y avait 15 tronçons dans le filtre FS et 16 dans le filtre FR lors de la campagne T1, et 14 et 16 tronçons dans le filtre FS et FR lors de la campagne T2. Puis, au sein de chaque tronçon, 1 à 3 prélèvements de sédiments étaient réalisés dans la largeur du filtre, avec moins de prélèvement le plus en amont à cause de végétation très dense, et la faible largeur du filtre faible (Figure 2.14). Lors de la **campagne T1** (Figure 2.14A), **39 et 38 échantillons de sédiment** ont été récupérés dans la zone amont du filtre FS et FR respectivement. Finalement, **38 et 44 échantillons** de sédiment ont été récupérés dans la zone amont du filtre FS et FR respectivement (Figure 2.14B).

Pour chaque prélèvement de sédiment, l'**épaisseur** de la couche de sédiment était également mesurée en chaque point pour suivre ce paramètre dans le temps et l'espace également.

Enfin, comme pour les prélèvements du V-2.2, ces prélèvements de sédiments ont été réalisés après le faucardage des roseaux, le 5 avril 2023.

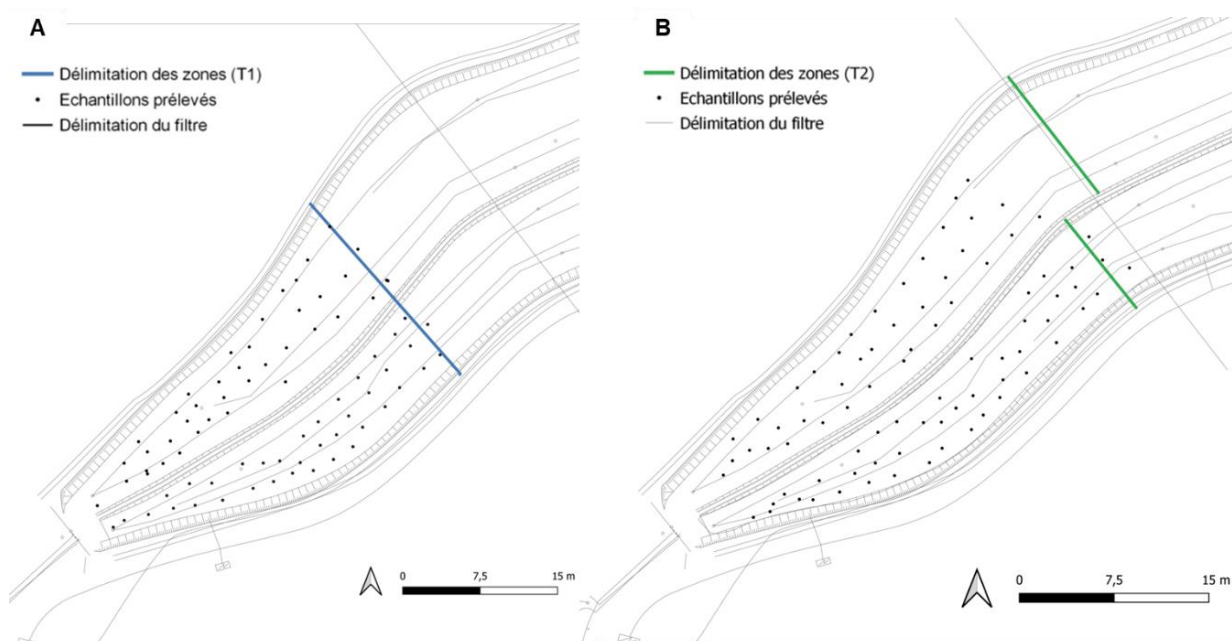


Figure 2.14 : Carte des prélèvements des sédiments en amont des FPR (points noirs) pour la réalisation de leur cartographie fine. A : lors de la campagne T1. B : lors de la campagne « T2 » (en avril 2023, six mois après T2).

V-2.4. Prélèvements pour les essais de biodégradation en laboratoire

Pour réaliser cette étude, des masses importantes de substrats ont été récupérées au niveau de la fin de la zone amont du filtre FR. Les trois différents substrats, sédiment, sable de surface et Rainclean ont été prélevés à l'aide d'une bêche.

Selon les masses volumiques respectives des substrats, les masses prélevées étaient différentes : 18 kg de sédiment, 30 kg de Rainclean et 50 kg de sable humides. Les substrats sont stockés dans des gros sacs plastiques et ramenés au laboratoire pour leur préparation.

V-3. Prélèvements de *Phragmites australis*

La **croissance** des roseaux dans le FPR avec le temps et leur **évolution** selon la localisation horizontale ont été évaluées au cours des campagnes **T0 et T1**. Lors des campagnes T0, une étude préliminaire avait été réalisée pour mettre en place le protocole d'étude du développement des différentes parties des roseaux : aériennes (tiges et feuilles) et souterraines (racines et rhizomes). Puis, il a été appliqué au T1 à plus grande échelle sur chaque zone des deux FPR. Les parties aériennes et souterraines ont été prélevées à l'aide de quadrats d'1 m² afin d'être caractérisées. Cependant, ces données n'ont pas pu être exploitées dans ce manuscrit par manque de temps. Les prélèvements, la préparation et les mesures réalisés lors de ces deux campagnes sont donc détaillés en Annexe 2-5, les résultats ne seront pas présentés.

Lors de la campagne **T2**, la végétation était trop dense pour réaliser les mêmes observations et prélèvements de la campagne T1. Un autre objectif était alors visé, l'évaluation de l'**exportation de micropolluants** lors du faucardage des parties aériennes des roseaux des FPR en fin d'hiver.

Nous avons donc profité du faucardage des roseaux en février 2023 pour évaluer la **masse totale exportée** de leurs parties aériennes et conserver sur place un quadrat de 1 m² de végétation dans chaque zone (amont, centre et aval) (Figure 2.15A). Ces quadrats de végétation ont ensuite été récoltés

le 13 mars 2023 en coupant à ras du sol à l'aide de ciseaux en inox et couteau en céramique les parties aériennes. Elles étaient finalement placées dans des grands sacs plastiques, soit 6 sacs de végétation aérienne récupérés au total (3 zones * 2 filtres) et amenés au laboratoire pour quantifier leur **masse** et leur **contamination**. Ces six prélèvements ont été géoréférencés, la Figure 2.15B représente leur position sur le filtre.



Figure 2.15 : Prélèvements des parties aériennes de *P. australis* réalisés en mars 2023. A : photographie des quadrats conservés sur place lors du faucardage (Crédit : J. Roux, 2023) ; B : localisation des prélèvements sur les filtres.

V-4. Résumé des différents échantillons prélevés dans le filtre planté de roseaux

Pour finir, Tableau 2.3 synthétise les différents échantillons qui ont été prélevés sur site au cours des différentes campagnes de prélèvement.

Tableau 2.3 : Les différents types d'échantillons de substrats et de *P. australis* récupérés au cours des campagnes de prélèvement. En rouge les échantillons n'ayant pas pu être caractérisés jusqu'au bout, donc non présentés dans la suite de ce manuscrit.

| Type d'échantillon | Objectif | Filtre prélevé | Campagne | Echantillons récupérés |
|--|---|----------------|----------------|---|
| Substrats (sédiment, sable de surface, Rainclean, sable profond) | Caractérisation des substrats des FPR et leur évolution dans le temps et l'espace | FS, FR | T0, T1, T2 | -Echantillons composites (+ uniques) -Cylindres pour la masse volumique -Cartographie fine des sédiments (ETM et épaisseur) |
| | Devenir des MPO émergents : essais de biodégradation | FR | Avril 2022 | Sable, Rc et sédiment en grande quantité |
| <i>P. australis</i> | Physiologie | FS, FR | T0, T1 | Quadrats de végétation (aérien et souterrain) |
| | Accumulation d'ETM et de MPO | FS, FR | Mars 2023 (T2) | Quadrats de végétation (aérien) |

VI - Préparation des échantillons

VI-1. Echantillons composites des substrats

Une fois les échantillons composites humides formés, ils ont donc été subdivisés selon les analyses réalisées par la suite. Ils sont placés dans une glacière à 4 °C le temps de les amener aux laboratoires. Par la suite, la conservation et la préparation des échantillons composites sont différentes.

Le Tableau 2.4 résume la préparation de ces échantillons composites selon les analyses, et l'Annexe 2-6 présente les différents flaconnages selon les analyses.

Tableau 2.4 : Conservation et préparation des échantillons selon les analyses réalisées. PP : Polypropylène.

| Analyse | Contenant | Quantité (g) | Conservation sur le terrain | Préparation de l'échantillon | Laboratoire |
|-----------------------------------|----------------------------|--------------|-----------------------------|--|--------------|
| Physico-chimie | Sachet plastique PP 1L | 1000 | 4°C | NF ISO 11464 : séchage 40 °C, tamisage à 2 mm, broyage fraction > 2 mm pour Rainclean et broyage final de tous les échantillons à 250 µm, sauf pour la granulométrie | SGS |
| ETM | Sachet plastique PP 1L | 200 | 4°C | Séchage air libre, tamisage 2 mm, broyage fraction > 2 mm pour tous les échantillons | INRAE |
| HAP/indices HC | Flacon grillé 600 mL | 500 | 4°C | Congélation, lyophilisation, broyage total des échantillons | SGS |
| AP/BPA/PAE | Flacon ambré grillé 250 mL | 100 | 4°C | Congélation, lyophilisation, broyage total des échantillons | LEESU |
| Microbiologie et biochimie | Sachet plastique PP 1L | 300 | 4°C | Séchage 25 °C, tamisage 2 mm, broyage fraction > 2 mm pour Rainclean | LEESU |
| Biologie moléculaire | Tube Falcon 15 mL | 10 | 4°C | Aucun, congélation jusqu'à extraction de l'ADN | LEESU |

VI-1.1. Analyses physico-chimiques

Environ **1 kg** d'échantillons sont stockés dans des sachets en plastique de 1 L. Puis ils sont préparés par le laboratoire d'analyse sous-traitant **SGS** (Société générale de surveillance, <https://www.sgs.com/fr-fr>) selon la norme NF ISO 11464 : séchage en étuve à 40°C jusqu'à masse constante, puis tamisage à 2 mm. Dans le cas du Rainclean, il a été décidé d'inclure la fraction > 2 mm afin d'analyser l'ensemble du matériau (donc broyage léger de la fraction >2 mm pour la faire passer au travers du tamis, comme pour les analyses microbiologiques). Enfin, les échantillons sont broyés à 250 µm afin d'obtenir des échantillons homogènes. Pour les analyses de granulométrie, l'échantillon brut a été utilisé (pas de broyage).

VI-1.2. Analyse des éléments traces métalliques

Environ **200 g** d'échantillons sont stockés dans des sachets en plastique de 1 L. Puis, ils sont séchés à l'air libre jusqu'à masse constante et tamisés à 2mm. Le refus (> 2 mm) a été légèrement broyé avec un mortier en céramique afin de récupérer la totalité du matériau (du Rainclean, du sable et du sédiment). Les échantillons sont ensuite conditionnés dans des piluliers en plastique pour être amenés au laboratoire d'analyse des sols **LAS, INRAE**. Les échantillons sont séchés à nouveau pendant 24/48h dans une pièce chauffée avant la préparation et les analyses. Le Rainclean est finalement broyé à 250 µm tandis que le sable et sédiment sont utilisés tels quels.

VI-1.3. Analyse des hydrocarbures aromatiques polycycliques et indices hydrocarbures

Environ **500 g** d'échantillons sont congelés après le prélèvement dans des flacons grillés en verre de 600 mL. Puis les échantillons sont lyophilisés et broyés finement sans tamisage préalable. Ils sont ensuite analysés par le laboratoire d'analyses sous-traitant **SGS**.

VI-1.4. Analyse des alkylphénols, bisphénol-A et phtalates

Environ **100 g** d'échantillon sont prélevés dans des flacons grillés (500°C) en verre ambré de 250 mL. A leur arrivée au laboratoire **LEESU**, ils sont congelés tels quels (-18°C), puis lyophilisés (*Alpha 1-2 LD Plus, CHRIST*) jusqu'à masse constante, et enfin broyés finement en poudre dans un broyeur planétaire en agate (*PM100, Retsch*). Aucun tamisage n'a été réalisé. Les mortiers sont rincés à l'eau, puis à l'eau distillée, et enfin à l'acétone entre chaque échantillon. Les échantillons broyés sont ensuite conservés dans leur flacon ambré dans un dessiccateur jusqu'à analyse.

VI-1.5. Analyses microbiologiques et biochimiques

Environ **300 g** d'échantillons sont stockés dans des sachets en plastique de 1 L. Puis, ils sont ramenés au **LEESU** et sont séchés dans une étuve ventilée à 25°C (*Venticell, MMM Medcenter*) jusqu'à masse constante. Ils sont ensuite tamisés à 2 mm. Le sable et le Rainclean ont environ 20 % et 35 % de particules au diamètre supérieur à 2 mm respectivement, le sédiment n'en possède quasiment pas (ou alors ce sont des petits grains de sable issus de la couche sous le sédiment, donc enlevé de l'échantillon). Un broyage léger du Rainclean uniquement a été réalisé pour que tout le matériau passe au tamis. Les échantillons sont ensuite stockés dans des piluliers en plastique jusqu'aux analyses. De plus, une petite partie de chaque échantillon brut a été prélevée dans un tube Falcon de 15mL et conservé au congélateur en vue des analyses de biologie moléculaire.

VI-2. Echantillons complémentaires de substrats

Pour les **cylindres de substrats pour l'étude de la masse volumique apparente**, aucune préparation n'a été réalisée au préalable.

Concernant les **échantillons de sédiment pour la cartographie fine** de la contamination en ETM, ils sont tout d'abord séchés à 105 °C dans une étuve jusqu'à masse constante. Ils sont ensuite tamisés à 2 mm (le refus est essentiellement constitué de déchets et débris végétaux) et enfin gardés dans un endroit sec jusqu'à analyse.

VI-3. Echantillons pour les essais de biodégradation

Les échantillons de substrat récupérés sur le terrain sont ramenés au laboratoire et mis à sécher dans des grands bacs plastiques à une température de 25 °C dans une salle ventilée et climatisée pendant 8 jours (substrats sec) (Figure 2.16). Les substrats sont quotidiennement mélangés pour que le séchage soit plus rapide, et les agrégats de sédiment sont décompactés également. Une fois secs, aucun tamisage n'est effectué pour garder les mêmes substrats que sur site pour le sable et le Rainclean, et le sédiment est tamisé à 2mm afin d'enlever le sable potentiellement récupéré lors de son prélèvement. Ils sont rangés dans des containers en plastique fermés, au sec et à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

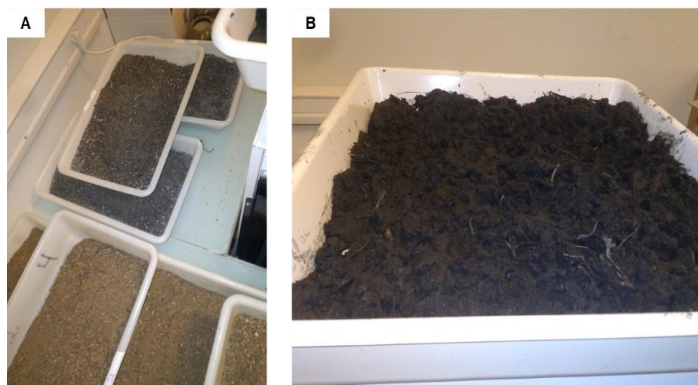


Figure 2.16 : Photographie du séchage des échantillons. A : sable et Rainclean ; B : sédiment (Crédit : J. Roux 2022).

VI-4. Echantillons de *Phragmites australis*

Les parties aériennes des roseaux récupérées après leur faucardage pour le dosage des micropolluants ont été conservées dans des sacs plastiques et ont été mises à sécher à température ambiante jusqu'à masse sèche. Puis, les échantillons ont été envoyés au laboratoire SGS pour le dosage de HAP et ETM.

Pour l'analyse des MPO émergents, environ 100 g de chaque échantillon (tiges et feuilles) ont été directement lyophilisés jusqu'à masse constante, pour ensuite être broyés en poudre (PULVERISETTE

14 classic line, Fritsch).

VII - Analyses réalisées sur les substrats

Les analyses présentées par la suite ont été réalisées sur les échantillons composites récupérés au cours des trois campagnes de prélèvement. Lors des essais de biodégradation (cf. IX -), certaines de ces mêmes analyses étaient réalisées, mais des **variantes** dans les protocoles ont également été appliquées. Elles sont alors indiquées en fin de chaque sous-partie.

VII-1. Analyses des propriétés physico-chimiques

Pour caractériser les substrats des FPR en termes de propriétés physico-chimiques, les analyses ont été réalisées par le laboratoire sous-traitant **SGS**. Le Tableau 2.5 présente les différentes analyses qui ont été réalisées, ainsi que les méthodes analytiques utilisées. Ce laboratoire a réalisé les analyses suivantes : mesure du pH (eau), teneurs en carbonates totaux, carbone organique, matière organique, azote total, azote ammoniacal, calcul du rapport C/N, mesure de la Capacité d'Echange Cationique (CEC), dosage du K₂O, MgO, CaO, Na₂O, P₂O₅ et mesure de la granulométrie. Ces analyses ont été réalisées selon les normes définies, ou bien selon des méthodes internes au laboratoire. Les limites de quantifications et incertitudes associées à ces différentes mesures sont présentées sur le Tableau 2.6.

Tableau 2.5 : Analyses physico-chimiques réalisées sur les substrats lors des trois campagnes de prélèvement et les normes et méthodes associées.

| Laboratoire | Analyse | Norme T1 | Norme T0-T2 | Méthode T1 | Méthode T0 et T2 |
|---------------|--|-----------------------|--|---|---|
| SGS | pH eau | NF EN 13037 | NF ISO 10390 | Mise en suspension de l'échantillon dans l'eau, rapport volume 1/5 (solide/liquide) | |
| | Azote total | Méthode interne | NF ISO 13878 | Méthode Kjeldahl | Méthode Dumas |
| | Azote ammoniacal | NF ISO 14256-2 | | Extraction KCl 1M et dosage colorimétrique | |
| | Matière organique | NF EN 13039 | NF ISO 14235 | Perte au feu | Spectrocolorimètre après oxydation en milieu sulfochromique |
| | Carbone organique total | NF ISO 10694 | NF ISO 14235 | Combustion sèche | |
| | Rapport C/N | - | - | Calcul | |
| | Carbonates totaux (CaCO ₃) | NFU 44-001 | NF ISO 10693 | - | Méthode volumétrique |
| | Capacité d'échange cationique | NFX 31-130 | | Méthode Metson (acétate d'ammonium) | |
| | Phosphore (P ₂ O ₅) | | NF ISO 11263 | | |
| | Potassium (K ₂ O) | Méthode interne selon | | Extraction à l'eau régale puis dosage ICP-MS | Méthode Olsen : extraction puis dosage ICP-AES |
| | Calcium (CaO) | NF EN 16174 | NFX 31-108 | | |
| | Magnésium (MgO) | | | | |
| | Sodium (Na ₂ O) | | | | |
| Granulométrie | NF ISO 13320-1 | | Granulométrie laser | | |
| LEESU | Masse volumique apparente | Méthode interne | Séchage d'un volume connu d'échantillon humide non remanié | | |
| | Capacité au champ | Méthode interne | Saturation en eau (24h) puis ressuyage (48h) et pesée de l'eau retenue | | |

Lors de la campagne T1, le laboratoire sous-traitant a changé la définition de la nature des substrats, donc les normes utilisées pour les analyses réalisées. En effet, ils ont considéré les échantillons comme des « boues » pour le sédiment et « déchets » pour le sable et Rainclean, ce qui n'est pas le cas (considéré comme des « terres » au T0 et T2). Malheureusement, il ne restait plus assez de matière pour refaire les analyses.

En plus de ces analyses, les mesures de la capacité au champ, de la masse sèche et de la masse volumique apparente ont été réalisées au LEESU.

Pour connaître le volume d'eau qu'un sol peut retenir après égouttement de l'eau libre (eau gravitaire), la **capacité au champ** est mesurée. Pour cela, 5 g d'échantillon sec sont pesés et placés dans un pilulier de 15 mL dont le bouchon a été modifié afin de placer une toile à bluter de 200 µm pour ouvrir le système. Les flacons sont ensuite retournés (bouchon au sol) dans un bac contenant de l'eau distillée et sont saturés pendant 24 h à température constante. Puis, le système est mis à ressuyer pendant 48h pour libérer l'eau gravitaire. Le système est pesé à nouveau, pour connaître la masse d'eau retenue dans chaque échantillon. La capacité de rétention est alors exprimée en mL d'eau retenue / g d'échantillon sec, ou bien en pourcentage.

La **masse sèche** des différents échantillons est mesurée en pesant 10 g d'échantillon humide qui est ensuite séché pendant 24 heures à 105 °C. La masse sèche est alors mesurée permettant de connaître l'humidité des échantillons et la réelle masse utilisée lors des analyses.

La **masse volumique apparente** est mesurée sur les cylindres de volume connu (100 cm³) prélevés sur site. Ils sont tout d'abord pesés humides, puis ils sont séchés à 105 °C jusqu'à masse constante et repesés secs. Cela permet de connaître la masse de substrat dans le volume connu, donc de rapporter les résultats en g/cm³. Cette mesure est importante pour réaliser les bilans de masse d'accumulation de polluants dans les différentes couches du filtre.

Tableau 2.6 : Limites de quantification (LQ), incertitudes de mesure et unités utilisées selon les différents paramètres physico-chimiques mesurés.

| Analyse | LQ | Incertitude (+-) | Unité |
|-----------------------------------|-------|------------------|-------|
| pH | 2 | 0,2 | - |
| Azote total | 0,35 | 0,14 | g/kg |
| Azote ammoniacal | 0,05 | 0,03 | mg/kg |
| Matière organique | 0,1 | 0,06 | g/kg |
| Carbone organique | 0,05 | 0,03 | g/kg |
| Carbonates totaux | 0,5 | 0,15 | % |
| CEC | 5 | 3 | me/kg |
| P₂O₅ | 0,001 | 0,0006 | g/kg |
| MgO | 0,005 | 0,003 | g/kg |
| CaO | 0,05 | 0,03 | g/kg |
| K₂O | 0,01 | 0,006 | g/kg |
| Na₂O | 0,005 | 0,003 | g/kg |
| Argile | 0,5 | 0,3 | % |
| Limon fin | 0,5 | 0,3 | % |
| Limon grossier | 0,5 | 0,3 | % |
| Sable fin | 0,5 | 0,3 | % |
| Sable grossier | 0,5 | 0,3 | % |

Enfin, certaines propriétés physico-chimiques ont également été mesurées dans les substrats au cours des **essais de biodégradation** (cf. IX -), au LEESU :

- **Mesure du pH** : le pH a été mesuré selon la norme NF ISO 10390 : suspension substrat/eau distillée au rapport 1/5 (volume/volume), agitation 1 heure puis 30 minutes de repos. Le pH est ensuite mesuré dans la solution, avec une sonde *HI 1053B* et un pH mètre *HANNA pH 211 Instruments*.

- **Mesure de la capacité au champ avec une masse plus importante** : Afin d'évaluer la capacité de rétention en eau des différents substrats, la capacité au champ a été mesurée dans les substrats avant de lancer l'expérimentation uniquement. Le protocole est le même que celui défini avant, cependant, il

a été réalisé sur une masse d'échantillon bien plus élevée : des colonnes ont été remplies de substrat (800 g de sable, 500 g de Rainclean et 250 g de sédiment), puis plongées dans de grands bacs pour la saturation. Cela permet d'être plus représentatif (car nous n'avions pas de contrainte liée au volume d'échantillon disponible pour analyse).

● **Mesure du carbone organique totale** : La mesure du carbone organique contenu dans les substrats a été réalisée sur tous les échantillons aux temps initial et final des essais de biodégradation uniquement. Ces analyses ont été réalisées par la cellule technique du LEESU. Le dosage du carbone organique total s'effectue sur l'appareil *Rapid CS Cube (Elementar)*, par combustion thermique à 960°C (sous flux gazeux : oxygène) en présence d'un catalyseur (oxyde Cerium (IV)). Tout d'abord, l'élimination de carbonates (ou carbone inorganique) s'effectue par ajout d'acide chlorhydrique 3% sur un échantillon sec pesé sur un filtre en fibre de verre *Whatman GFF*, puis l'échantillon est séché avant dosage. Le carbone organique est ensuite transformé en CO₂ par combustion thermique (oxydation thermique), et il est détecté par Infra-Rouge. Sa quantification est réalisée grâce à l'utilisation d'une gamme étalon (hydrogénéphthalate de potassium).

VII-2. Analyses des micropolluants

Un objectif important de ce projet est d'étudier le devenir des polluants dans le filtre. Pour cela, avec les partenaires du projet, les teneurs en micropolluants organiques (HAP, indices HC, BPA, AP, PAE) et métalliques (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) ont été évaluées pour les différents échantillons récupérés lors des trois campagnes de prélèvement. Cela permettra notamment de réaliser un bilan de masse et de suivre l'enrichissement en pollution du FPR au cours du temps. Les MP suivis ainsi que les laboratoires responsables de l'analyse sont présentés dans le Tableau 2.7. Pour ces analyses, une seule répétition a pu être réalisée par échantillon.

Tableau 2.7 : Micropolluants organiques et métalliques étudiés et laboratoires responsables (la Partie I rappelle les différents noms des composés).

| Micropolluant dosé | Composés | Laboratoire |
|--|--|-------------|
| Éléments traces métalliques (ETM) | Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn | LAS-INRAE |
| Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) | 16 HAP prioritaires : Nap, Acyl, Acen, F, A, Phen, Fluo, Pyr, BaA, Chry, BaP, BbF, BkF, DahA, Bper, IP | SGS |
| Indices Hydrocarbures (HC) | Indice C10-C40, Indice C10-C11, Indice C11-C12, Indice C12-C16, Indice C16-C21, Indice C21-C35, Indice C35-C40 | SGS |
| Alkylphénols (AP) | 4-NP, NP1EO, NP2EO, NP1EC, 4-OP, OP1EO, OP2EO | LEESU |
| Bisphénol A (BPA) | BPA | LEESU |
| Phtalates (PAE) | DMP, DEP, DiBP, DBP, DMEP, DMPP, DEEP, DPP, BBP, DNHP, DBEP, DEHP, DNOP, DNP | LEESU |

VII-2.1. Dosage des éléments traces métalliques (ETM)

VII-2.1.1. Dosage des ETM dans les échantillons composites

Afin de quantifier les teneurs totales en Cr, Cu, Cd, Ni, Pb et Zn dans les différents échantillons composites, ils ont été envoyés au laboratoire LAS de l'INRAE pour un dosage selon la norme **ISO 11466**.

Pour cela, **3 g** de l'échantillon (broyé pour le Rainclean, cf. paragraphe VI-1.2) est soumis à l'action d'un mélange d'acide chlorhydrique et d'acide nitrique (eau régale, rapport 3/1) pendant 16 heures à température ambiante et puis emmené à ébullition avec reflux pendant 2 heures (110 °C). L'extrait est ensuite filtré et ajusté au volume avec de l'acide nitrique dilué. Les concentrations des éléments ont ensuite été déterminées par spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES), sauf pour le Cd qui est déterminé par ICP-MS.

Cette extraction est moins complète que la méthode à l'acide fluorhydrique et à l'acide perchlorique. Les résultats en ETM présents dans les phases silicatées sont en général plus faibles que ceux de minéralisations totales.

Les limites de quantification ainsi que les incertitudes associées au dosage de ces ETM sont présentées dans le Tableau 2.8.

Tableau 2.8 : Limites de quantification (LQ), incertitudes de mesures et unités associées à l'analyse des différents éléments traces métalliques. L'équation d'incertitude est obtenue par des essais de répétabilité. [C] correspond à la teneur mesurée.

| Analyse | LQ | Incertitude ($I=A.[C]+B$) | Unité |
|-----------|-------|--------------------------------|-------|
| Cd | 0,015 | $I=0.061*[C]+0.02$ | mg/kg |
| Cr | 0,5 | $I=0.061*[C]+2.57$ | mg/kg |
| Cu | 1 | $I=0.042*[C]+1.17$ | mg/kg |
| Ni | 2 | $I=0.082*[C]+3.06$ | mg/kg |
| Pb | 4 | $I=0.040*[C]+2.16$ | mg/kg |
| Zn | 3 | $I=0.042*[C]+2.61$ | mg/kg |

VII-2.1.2. Dosage des ETM pour la cartographie fine du sédiment

Les échantillons uniques de sédiments prélevés pour la cartographie ont été analysés avec le Cerema à Trappes (78) Les teneurs en ETM ont été quantifiées en utilisant un analyseur à fluorescence X portatif (*Niton XL3t GOLDD+*, *Thermo Scientific*) préalablement calibré avec un matériau de référence.

Les échantillons lyophilisés et tamisés à 100 µm sont placés dans un cylindre plastique, fermé par le bas avec un mylar, jusqu'à une hauteur de 2 cm de sédiment. Puis, pour tasser l'échantillon, les cylindres sont tapotés délicatement. Enfin, l'analyse est réalisée en plaçant ce cylindre dans une chambre plombée, le mylar face au sol, l'analyseur par-dessous. Le faisceau peut ainsi passer au travers du cylindre pour effectuer la mesure. Un échantillon de sable de référence a été utilisé pour calibrer l'appareil avant analyse. Il s'agit de la seule analyse de MP ayant pu être réalisée en triplicata.

VII-2.1.3. Traitement des données

Pour le dosage par ICP, une gamme d'étalonnage permet finalement d'obtenir les teneurs en ETM à partir des aires obtenues, et les résultats sont rapportés par gramme d'échantillon sec (mg/kg sec). Pour le dosage par l'analyseur à fluorescence X, les données obtenues sont directement des teneurs en mg/kg.

VII-2.2. Dosage des micropolluants organiques : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) et indices Hydrocarbures (HC)

Le dosage des HAP et des indices HC a été sous-traité au laboratoire SGS. Tout d'abord, les **16 HAP prioritaires** ont été quantifiés dans les substrats selon la norme **NF ISO 18287**. Il s'agit d'une méthode d'extraction par l'utilisation d'acétone et d'éther de pétrole, suivi d'une quantification par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS).

Puis, les **indices HC** (indice C10-C40 et par tranches : C10-C11, C11-C12, C12-C16, C16-C21, C21-C35 et C35-C40) ont été quantifiés selon la norme **NF EN 14039**. C'est une méthode d'extraction avec l'utilisation d'un mélange acétone/n-heptane, suivi d'une quantification par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire avec détection par ionisation de flamme.

Les limites de quantification ainsi que les incertitudes associées aux dosages sont présentées sur le Tableau 2.9.

Tableau 2.9 : Limites de quantification (LQ), incertitudes de mesures et unités associées à l'analyse des HAP et indices HC.

| Analyse | LQ | Incertitude (+ ou -) | Unité | Analyse | LQ | Incertitude (+ ou -) | Unité |
|-------------------------|------|----------------------|-------|------------------------------|----|----------------------|-------|
| Acénaphthène | 0,05 | 28,00% | mg/kg | Indice hydrocarbures C10-C40 | 10 | 14,00% | mg/kg |
| Acénaphthylène | 0,05 | | mg/kg | Indice hydrocarbures C10-C11 | 10 | 14,00% | mg/kg |
| Anthracène | 0,05 | 38,00% | mg/kg | Indice hydrocarbures C11-C12 | 10 | 14,00% | mg/kg |
| Benzo(a)anthracène | 0,05 | 31,00% | mg/kg | Indice hydrocarbures C12-C16 | 10 | 14,00% | mg/kg |
| Benzo(a)pyrène | 0,05 | 28,00% | mg/kg | Indice hydrocarbures C16-C21 | 10 | 14,00% | mg/kg |
| Benzo(b)fluoranthène | 0,05 | | mg/kg | Indice hydrocarbures C21-C35 | 10 | 14,00% | mg/kg |
| Benzo(g,h,i)pérylène | 0,05 | 23,00% | mg/kg | Indice hydrocarbures C35-C40 | 10 | 14,00% | mg/kg |
| Benzo(k)fluoranthène | 0,05 | 23,00% | mg/kg | | | | |
| Chrysène | 0,05 | 21,00% | mg/kg | | | | |
| Dibenzo(a,h)anthracène | 0,05 | 40,00% | mg/kg | | | | |
| Fluoranthène | 0,05 | 15,00% | mg/kg | | | | |
| Fluorène | 0,05 | 35,00% | mg/kg | | | | |
| Indeno(1,2,3-c,d)pyrène | 0,05 | 38,00% | mg/kg | | | | |
| Naphthalène | 0,05 | 36,00% | mg/kg | | | | |
| Phenanthrène | 0,05 | 21,00% | mg/kg | | | | |
| Pyrène | 0,05 | 17,00% | mg/kg | | | | |

VII-2.3. Dosage des micropolluants organiques émergents : alkylphénols (AP), bisphénol-A (BPA) et phtalates (PAE)

L'analyse des AP, BPA et PAE a été réalisée au laboratoire LEESU. Les appareils utilisés pour cette analyse font partis de l'observatoire OSU-PRAMMICS. Les MPO étant présents dans l'environnement à l'état de traces, leur analyse nécessite des précautions afin d'éviter toute contamination des échantillons ; toute verrerie utilisée est dans un premier temps lavée au TFD-4 (détergent sans AP) durant une nuit, puis rincée à l'eau du robinet puis à l'eau ultrapure (18.2 MΩ.cm, 2.1 ppb TOC, IQ 7000, Merck). Enfin, la verrerie est grillée au four à 500 °C (four Carbolite Gero) durant deux heures pour pyrolyser les résidus organiques. Pour les objets d'une autre composition que le verre (téflon par exemple), ils sont nettoyés avec de l'acétate d'éthyle (EtAc) ou de l'acétone. Enfin, aucun récipient plastique n'est utilisé tout au long des manipulations.

Le protocole analytique utilisé au cours de cette thèse a déjà été développé et validé au LEESU (Cladière, 2012). Il s'agit d'une méthode d'extraction des MPO par la combinaison de solvants et micro-ondes. **L'extraction par micro-ondes** a pour but d'extraire les MPO sous forme particulaire dans des filtres ou sols. L'extraction s'effectue en utilisant un triptyque solvant + puissance + température spécifique aux molécules d'intérêt. Cette étape d'extraction est contrôlée par étalonnage interne de concentration connue (étalon d'extraction). Les extraits récupérés sont alors filtrés, évaporés afin de pouvoir concentrer l'échantillon puis purifiés sur des cartouches contenant de l'alumine avant de les analyser par GC-MS pour les PAE et UPLC-MS-MS pour les AP et BPA. Les solvants et étalons utilisés au cours de ces analyses sont regroupés dans le Tableau 2.10.

VII-2.3.1. Extraction des échantillons solides

Les échantillons composites analysés sont présents sous forme de poudre homogène lyophilisée (cf. paragraphe VI-1.4). Tout d'abord, 500 mg de chaque échantillon ont été utilisés pour extraire les MPO. L'extraction des PAE puis des AP et BPA est réalisée à la suite, sur les mêmes solides.

Pour l'extraction des **PAE**, chaque échantillon est placé dans une bombe en Teflon-PFA dans laquelle 20 mL d'EtAc et 25 µL d'une solution standard d'étalons d'extraction deutérés ou non (DEHP-d14, Benzyl Benzoate (BB) et DBP-d4) sont ajoutés (Figure 2.17A). Les étalons d'extraction sont utilisés

afin de vérifier la qualité de l'extraction des composés dans les échantillons par le calcul des rendements d'extraction. 25 µL d'une solution standard d'étalons d'extraction deutérés pour les AP et BPA (BPA-d6, NP1EO-d2, 4-t-OP-d17) sont également ajoutés. Les échantillons sont alors extraits à l'aide du micro-ondes Multiwave 3000 (Anton Paar) par l'augmentation de pression et température (Figure 2.17B). Le programme va chauffer les échantillons à 140°C à une puissance de 1400 W au cours d'un cycle de 30 minutes (15 min de haute pression et température, puis 15 minutes de refroidissement). Les extraits obtenus sont ensuite filtrés à travers un filtre en papier (5-8 µm de taille de pore, VWR) prélevé au DCM pour éliminer des éventuelles particules fines de l'échantillon, en faisant bien attention de garder tout le solide dans la bombe à téflon pour l'extraction suivante (AP/BPA) (Figure 2.17C). Les extraits sont ensuite concentrés grâce à un évaporateur rotatif (Rotavapor R-114 et Vacuum controller V-850, Buchi) à une pression de 74 mbar pour évaporer l'EtAc (Figure 2.17D). Ils sont évaporés jusqu'à un volume d'environ 2 mL. Les ballons sont rincés avec 2 mL d'EtAc qui sont ajoutés à l'extrait, et les extraits sont finalement récupérés dans des petits flacons en verre ambré de 15 mL. Ils sont conservés au congélateur jusqu'à la prochaine étape.

Tableau 2.10 : Solvants et composés utilisés pour l'analyse des AP, BPA et PAE.

| Type | Nom (abréviation) | Qualité/Pureté | Fournisseur |
|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|-----------------------|
| Solvants | Methanol (MeOH) | LC-MS | Fisher Chemical |
| | Dichlorométhane (DCM) | Suprasolv pour chromatographie | Supelco-Sigma Aldrich |
| | Acétate d'éthyle (EtAce) | Suprasolv pour chromatographie | Supelco-Sigma Aldrich |
| | Acétone | Suprasolv pour chromatographie | Supelco-Sigma Aldrich |
| Composés ciblés | Eau (H2O-UP) | Ultrapure | IQ 7000, Merck |
| | BPA | > 99% | Sigma Aldrich |
| | 4-NP | > 90% | Sigma Aldrich |
| | NP1EO | > 99% | Dr Ehrenstorfer GmbH |
| | NP2EO | > 99% | Dr Ehrenstorfer GmbH |
| | NP1EC | > 99% | Dr Ehrenstorfer GmbH |
| | 4-t-OP | > 98% | CIL Cluzeau |
| | OP1EO | > 99% | Dr Ehrenstorfer GmbH |
| | OP2EO | > 99% | Dr Ehrenstorfer GmbH |
| | Etalons internes d'injection | BPA-d16 | > 99% |
| 4-nNP | | > 99% | LGC standards |
| nNP1EO | | > 99% | LGC standards |
| nNP2EC | | > 99% | LGC standards |
| Etalons internes d'extraction | BPA-d6 | > 99% | CIL |
| | NP1EO-d2 | > 99% | Sigma Aldrich |
| | n-OP-d17 | > 99% | CDN isotopes |

Les tubes en téflon avec les échantillons solides déjà extraits sont repris, et la deuxième extraction, celle des **AP/BPA** peut débiter, selon la même méthode mais avec des solvants différents. Dans chaque tube, 20 mL d'un mélange de solvants MeOH/ DCM 60/40 (v/v) est ajouté. Les échantillons sont ensuite extraits à l'aide du micro-ondes Multiwave 3000 (Anton Paar). Au-delà de la différence du mélange de solvants, la différence avec le cycle de PAE est la puissance, au lieu de 1400 W pendant 15 minutes on a 800 W pendant 5 min puis 300 W pendant 10 min. Les extraits obtenus sont ensuite filtrés à travers un nouveau filtre en papier décontaminé (en versant tout l'échantillon solide cette fois), et évaporés grâce à l'évaporateur rotatif (pression de 200 mbar pour le mélange MeOH/DCM) jusqu'à un volume d'environ 2 mL. Les ballons sont rincés avec 2 mL de MeOH, et les extraits (seconde fraction) sont récupérés dans de nouveaux flacons. Ils sont conservés au congélateur jusqu'à la prochaine étape.

VII-2.3.2. Purification des échantillons

Les matrices sont bien souvent complexes et nécessitent une purification préalable avant analyse, notamment pour la phase particulaire. La purification se fait sur des cartouches en verre (1,5 cm de diamètre) préparées au laboratoire, contenant 1g d'alumine (Restek, qualité pour GC-MS), entouré de bouchon de laine de verre. Les cartouches sont placées sur un support de filtration sous-vide (VisiPrep Supelco), dont les aiguilles en métal ont été nettoyées préalablement (550°C, 2h). Les cartouches sont tout d'abord conditionnées à l'aide de 6 mL d'EtAc puis 1 mL d'eau ultrapure. Après s'être assuré que les éventuelles traces d'eau sont éliminées, les échantillons peuvent être purifiés, l'extrait de PAE dans un premier temps puis celui des AP/BPA par passage sur les cartouches à pression atmosphérique (Figure 2.17E).

La fraction PAE (environ 5 mL) est récupérée dans un nouveau flacon. Un changement de flacon est effectué sous la cartouche et la fraction AP/BPA purifiée est récupérée. Ces deux fractions sont conservées au congélateur jusqu'à l'étape suivante.

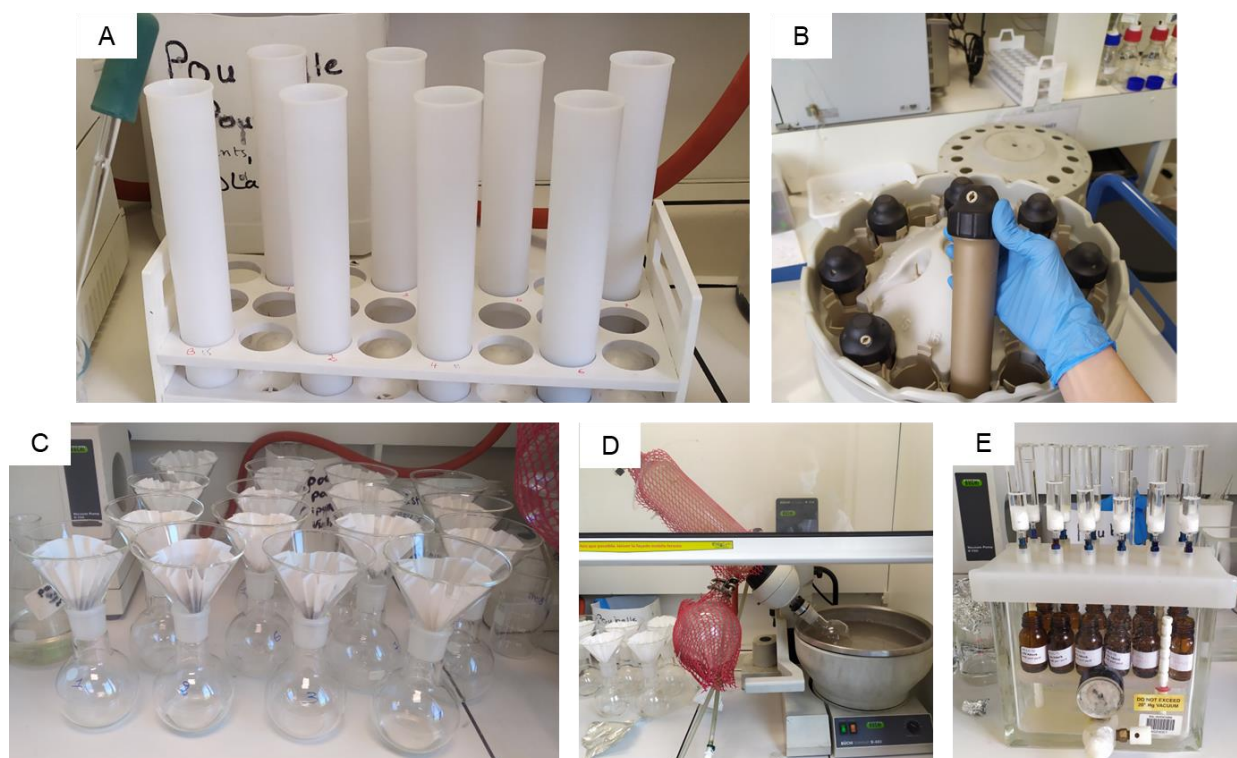


Figure 2.17 : Les différentes étapes d'extraction et purification des échantillons pour l'analyse des PAE, AP et BPA. A : Tubes téflons utilisés. B : Tubes téflons mis dans les matrasses, refermés et placés dans les compartiments du micro-onde. C : Filtration des échantillons extraits. D : Evaporation des extraits. E : Purification des échantillons extraits et filtrés (Crédit : J. Roux 2022).

VII-2.3.3. Préparation des échantillons pour l'analyse

Finalement, pour l'analyse des phtalates, 250 μ L d'extrait purifié est placé dans un vial ambré de 1,5 mL avec restricteur (pas d'évaporation à sec) pour l'analyse en GC-MS. Les échantillons sont directement prêts à être analysés (pas d'utilisation d'étalon d'injection, il s'agit pour les phtalates des étalons d'extraction).

Pour l'analyse des AP/BPA, l'échantillon purifié ne contient pas tous les AP/BPA extraits, une partie des composés a été extraite également lors du premier cycle des PAE et se trouve dans les 4,75 mL restants de la fraction PAE. Ainsi, les échantillons purifiés de AP/BPA sont tout d'abord concentrés sous flux d'azote (pour diminuer leur volume) puis les deux fractions d'extraits purifiés sont regroupées de manière à obtenir la totalité des AP/BPA extraits au cours des deux extractions. 50 μ L d'étalon interne d'injection sont ensuite ajoutés à chaque échantillon (contenant du BPA-d16, 4-nNP, nNP1EO, nNP1EC, voir Annexe 2-7), le tout est évaporé à sec sous flux d'azote pour être finalement repris dans 1 mL de phase mobile A/B 50/50 (v/v) (composition détaillée juste après). Le tout est bien homogénéisé

et enfin transféré dans des vials de 1,5 mL. Les échantillons sont prêts à être analysés en chromatographie liquide ultra performance coupée à un spectromètre de masse en tandem (UPLC-MS-MS).

Les étalons internes d'injection sont ajoutés dans les échantillons afin d'améliorer la quantification des AP et BPA. Ils ont pour mission de corriger les amplifications ou réductions de signal en raison d'effets de matrice liés à la nature complexe des échantillons. Ce phénomène lié à la matrice est observable avec la source électrospray utilisée en UPLC-MS-MS. Les analyses en GC-MS (source à impact électronique) ne sont pas ou peu impactées par les effets matrices, c'est pour cela que les étalons d'injection ne sont pas utilisés.

VII-2.3.4. Analyse des alkylphénols et bisphénol-A : Chromatographie liquide ultra performance (UPLC) coupée à un spectromètre de masse en tandem (MS-MS)

L'analyse des **AP et BPA** avec les 8 composés suivants a été réalisée par **Chromatographie Liquide Ultra Performance (ACQUITY UPLC, Waters)** couplée à un **spectromètre de masse en tandem (MS-MS) (ACQUITY TQD, Waters)** : BPA, 4-NP, NP1EO, NP2EO, NP1EC, 4-t-OP, OP1EO et OP2EO. L'appareil est représenté sur la Figure 2.18. Les étalons internes d'extraction et d'injection utilisés selon les composés dosés sont présentés sur le Tableau 2.11. L'analyse des échantillons est réalisée sur un volume de 10 µL.

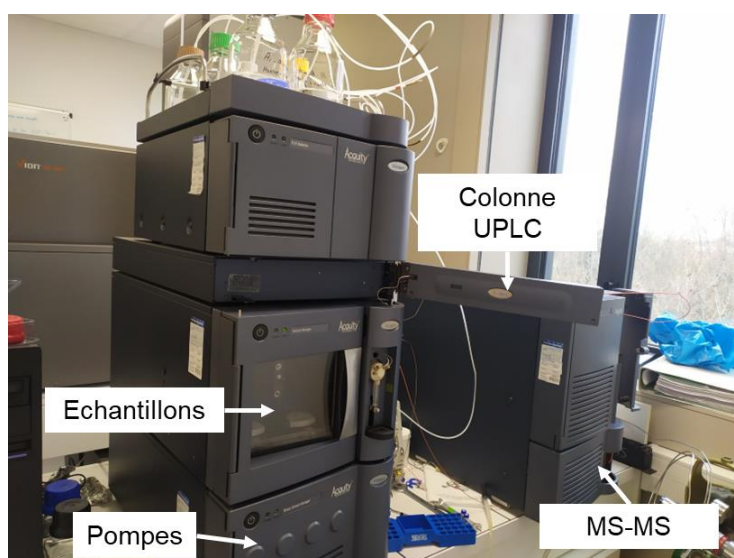


Figure 2.18 : L'UPLC-MS-MS utilisée lors de l'analyse des alkylphénols et bisphénol-A (Crédit : J. Roux 2022).

Tableau 2.11 : Les composés ciblés lors de l'analyse ainsi que leur étalon interne d'extraction et d'injection. Pour le NP1EC, le BPA-d6 est utilisé comme étalon d'extraction car ils sont à des temps de rétention proches ce qui signifie qu'ils ont des affinités pour les phases stationnaires/ des propriétés physico-chimiques proches.

| Composé cible | Etalon interne d'extraction | Etalon interne d'injection |
|---------------|-----------------------------|----------------------------|
| BPA | BPA-d6 | BPA-d16 |
| 4-NP | NP1EO-d2 | 4-nNP |
| NP1EO | NP1EO-d2 | nNP1EO |
| NP2EO | NP1EO-d2 | nNP1EO |
| NP1EC | BPA-d6 | nNP2EC |
| 4-t-OP | n-OP-d17 | 4-nNP |
| OP1EO | n-OP-d17 | nNP1EO |
| OP2EO | n-OP-d17 | nNP1EO |

• Paramètres chromatographiques

Tout d'abord, la séparation des composés est effectuée en phase inverse, sur colonne Acquity UPLC BEH C18 (100 mm * 2,1 mm * 1,7 µm) maintenue à 40°C. La phase mobile utilisée est composée d'un mélange des solutions A et B. La solution A correspond à de l'eau ultrapure contenant 0,05 % de NH₄⁺OH⁻ et la solution B correspond à du méthanol avec 0,05 % de NH₄⁺OH⁻. Avant le passage des échantillons, l'équilibre de la colonne s'effectue en augmentant progressivement le débit de phase mobile A/B à 50/50 (v/v). Le débit final est de 0,4 mL/min. Une fois les échantillons injectés, ils sont élués dans la colonne selon un cycle de 8 minutes, avec un gradient d'éluion présenté dans le Tableau 2.12. Les composés auront alors un temps de rétention différent dans la colonne selon leur affinité pour celle-ci ; ces temps sont présentés dans le Tableau 2.13.

Tableau 2.12 : Gradient d'éluion de la phase mobile dans la colonne Acquity UPLC BEH C18, avec débit à 0,4 mL/min.

| Temps (min) | 0 | 3 | 5 | 6 | 8 |
|-------------|-------|------|-------|-------|-------|
| % A/% B | 50/50 | 5/95 | 0/100 | 50/50 | 50/50 |

Tableau 2.13 : Paramètres de l'UPLC-MS-MS selon les composés.

| Type | Composé | Temps de rétention (min) | Mode détection ESI | Quantification | | Confirmation | | Tensions de cône (eV) |
|-------------------------------|----------|--------------------------|--------------------|---|---------------------------|---|---------------------------|-----------------------|
| | | | | Transitions ion parent → ion fils (m/z) | Energie de Collision (eV) | Transitions ion parent → ion fils (m/z) | Energie de Collision (eV) | |
| Composés ciblés | BPA | 2,04 | ESI- | 226,9 → 133,1 | 22 | 226,9 → 212,2 | 25 | 38 |
| | 4-NP | 3,45 | ESI- | 219,1 → 147,1 | 28 | 219,1 → 133,1 | 26 | 42 |
| | NP1EO | 3,53 | ESI+ | 282,2 → 127,1 | 8 | 282,2 → 71,1 | 16 | 20 |
| | NP2EO | 3,55 | ESI+ | 326,2 → 183,1 | 10 | 326,2 → 71,1 | 20 | 28 |
| | NP1EC | 2,05 | ESI- | 277,2 → 219,2 | 18 | 277,2 → 133 | 38 | 35 |
| | 4-t-OP | 3,25 | ESI- | 205,1 → 133,9 | 18 | 205,2 → 133,2 | 30 | 45 |
| | OP1EO | 3,34 | ESI+ | 268,2 → 113,4 | 10 | 268,2 → 139,2 | 12 | 20 |
| | OP2EO | 3,38 | ESI+ | 312,3 → 183,3 | 10 | 312,3 → 121,2 | 18 | 20 |
| Etalons internes d'extraction | BPA-d6 | 2,04 | ESI- | 233,2 → 215,2 | 18 | 233,2 → 138,2 | 30 | 38 |
| | NP1EO-d2 | 3,57 | ESI+ | 284,3 → 127,2 | 8 | 284,3 → 71,1 | 15 | 22 |
| | n-OP-d17 | 3,55 | ESI- | 222,3 → 108,1 | 23 | 222,3 → 122,2 | 36 | 48 |
| Etalons internes d'injection | BPA-d16 | 2,03 | ESI- | 241,3 → 223,2 | 22 | 241,3 → 142 | 25 | 38 |
| | 4-nNP | 3,76 | ESI- | 219,2 → 106,2 | 24 | - | - | 45 |
| | nNP1EO | 3,82 | ESI+ | 282,4 → 265,3 | 7 | 265,3 → 265,3 | 3 | 20 |
| | nNP2EC | 2,5 | ESI- | 321,3 → 219,3 | 18 | 321,3 → 106,1 | 38 | 28 |

• Paramètres spectrométriques

Les échantillons sont ensuite analysés par un spectromètre de masse, composé d'une interface d'ionisation, d'un triple quadripôle et pour finir d'un détecteur. Dans un premier temps, les échantillons en sortie de colonne sont ionisés par électronebulisation (ElectroSpray Ionization, ESI). L'ionisation est réalisée en mode positif (ESI+) ou négatif (ESI-) (Tableau 2.13) selon les molécules. Les paramètres optimaux choisis pour l'ionisation ont été déterminés préalablement en réalisant l'infusion de chacune des molécules. Puis, l'analyse en mode Multiple Reaction Monitoring (MRM) est utilisée dans le triple quadripôle. Cela permet de suivre les transitions entre un ion parent et un ion fils pour plusieurs composés en simultané. Le premier quadripôle sélectionne l'ion parent en sortie de l'ESI, puis il est fractionné pour produire des ions fils dans la chambre de collision (sous argon) dans le second quadripôle. Ces derniers sont ensuite focalisés selon leur rapport masse/charge dans le dernier quadripôle. Lors de l'électronebulisation, la tension de cône est optimisée selon le composé et lors du fractionnement (Tableau 2.13), l'intensité de l'ion fils obtenu est optimisée via l'énergie de collision.

Enfin, pour la quantification de ces composés, deux transitions ions parent → ion fils ont été utilisées. La transition donnant le signal le plus élevé est définie comme transition principale, de quantification du

composé, et une transition mineure sert à confirmer l'identité du composé. Ces transitions ainsi que leur énergie de collision sont fournies dans le Tableau 2.13. Les paramètres spectrométriques identiques quel que soit le composé analysé sont résumés dans le Tableau 2.14.

Tableau 2.14 : Paramètres constants du spectromètre de masse selon une ionisation réalisée en mode positif (ESI+) ou négatif (ESI-).

| Paramètre | Valeur ESI- | Valeur ESI+ |
|--|-------------|-------------|
| Température de la source (T°C) | 150 | 150 |
| Température de désolvatation (T°C) | 350 | 350 |
| Tension du capillaire (kV) | 2,2 | 3 |
| Tension de l'extracteur (V) | 3 | 3 |
| Tension des lentilles radio-fréquences (V) | 0,1 | 0,1 |
| Débit gaz : désolvatation (L/h) | 650 | 550 |

• Gammes d'étalonnage

Pour réaliser la quantification des AP et BPA, deux solutions mères (S1 et S2) sont réalisées, contenant les molécules cibles et les étalons internes d'injection et d'extraction à deux concentrations différentes puis diluées en 13 concentrations. Cela permet d'obtenir deux gammes, une gamme basse (concentrations faibles) et une gamme haute (concentrations élevées), la première étant composée des points 1 à 7, et la seconde des points 7 à 12. Les compositions des solutions mères sont présentées en Annexe 2-7. Les différentes concentrations des composés analysés dans la gamme sont présentées dans le Tableau 2.15. Les résultats des gammes obtenues (graphique et R²) pour les différents composés sont finalement représentés en Annexe 2-8. La quantification est réalisée par étalonnage interne, en traçant le ratio de l'aire du composé sur l'aire de l'étalon interne associé (Aire AP/Aire EI) en abscisse et en traçant le ratio de la quantité du composé sur la quantité de l'étalon interne (qAP/qEI) en ordonnée. La gamme était réalisée pour chaque nouvelle séquence analytique.

Tableau 2.15 : Concentrations minimum et maximum de chaque composé dosé dans les gammes basses (point 1 à 7) et hautes (point 7 à 12).

| Composé | Gamme basse (µg/L) | Gamme haute (µg/L) |
|---------|--------------------|--------------------|
| BPA | 0,35-7,03 | 7,03-281,4 |
| 4-NP | 0,40-7,98 | 7,98-319 |
| NP1EO | 0,23-4,69 | 4,69-187,5 |
| NP2EO | 0,16-3,13 | 3,13-125 |
| NP1EC | 0,25-5,0 | 5,0-200 |
| 4-OP | 0,32-6,32 | 6,32-252,6 |
| OP1EO | 0,25-5,0 | 5,0-200 |
| OP2EO | 0,25-5,0 | 5,0-200 |

• Contrôles analytiques

Pour chaque séquence d'échantillons, en début de séquence et toutes les dix injections, un contrôle localisé dans la gamme basse et un contrôle dans la gamme haute sont analysés. Le but étant de vérifier si une dérive du signal est observée au cours de la séquence en raison d'un éventuel encrassement de la source. Ainsi, en comparant ces valeurs aux points de gamme correspondants, il est possible de mettre en évidence une dérive et de tracer une carte de contrôles (limite de surveillance à 20 %, limite de contrôle à 30%).

• Limites de quantification de l'UPLC-MS-MS

Les limites de quantification ont été déterminées selon les guides de la norme AFNOR NF T90-210 à partir des écarts sur 5 gammes utilisées lors de différentes séquences. Les limites obtenues (ng injectés), remontées aux concentrations dans les échantillons pour une prise d'essai de 500 mg sont présentées dans le Tableau 2-16.

Tableau 2.16 : Limites de quantification (LQ) instrumentales, en quantité injectée et en teneur pour une prise d'essai de 500 mg.

| Composé | LQ (ng injecté) | LQ 500 mg (µg/g) |
|---------|-----------------|------------------|
| BPA | 0,0096 | 0,0019 |
| 4-NP | 0,0086 | 0,0017 |
| NP1EO | 0,0069 | 0,0014 |
| NP2EO | 0,0036 | 0,0007 |
| NP1EC | 0,0049 | 0,0010 |
| 4-t-OP | 0,0081 | 0,0016 |
| OP1EO | 0,0070 | 0,0014 |
| OP2EO | 0,0079 | 0,0016 |

- **Blancs**

Plusieurs types de blancs ont été réalisés au cours des analyses. Tout d'abord, des **blancs de procédure analytique** ont été réalisés selon le même protocole d'analyse que les échantillons afin de quantifier toute contamination au cours des différentes étapes analytiques (extraction, filtration, purification). Un blanc par série au minimum était réalisé. Pour cela, seul les mélanges de solvants et les solutions d'étalons d'extraction ont été placés dans les tubes en téflon et ont suivi toutes les étapes du protocole analytique. Les résultats des blancs sont présentés dans le Tableau 2.17. Au cours des trois campagnes de prélèvement, 7 blancs ont été réalisés et analysés.

Ce tableau montre qu'aucune teneur quantifiable n'a été retrouvée dans la moyenne des blancs de procédure pour le NP1EO, NP1EC, 4-OP, OP1EO et OP2EO. Toutefois, le 4-NP était toujours supérieur à la LQ et avait la teneur la plus élevée parmi les composés. Le BPA et le NP2EO étaient quantifiés uniquement lors de l'analyse de la campagne T2 et lors des campagnes T0-T1 respectivement, à des teneurs plus faibles.

Enfin, des **blancs d'appareil** ont également été réalisés au cours de chaque série d'analyse. Deux échantillons contenant de la phase mobile étaient placés avec les contrôles analytiques pour vérifier une éventuelle contamination dans l'appareil au cours de la séquence.

Tableau 2.17 : Teneurs moyenne des blancs d'extraction (écart-type) et comparaison selon la limite de quantification (LQ).

| Composé | Séquence campagnes T0 et T1 | | | Séquence campagne T2 | | |
|---------|-----------------------------|------------|--------------------|----------------------|------------|--------------------|
| | Teneur blanc (µg/g) | Ecart-type | Teneur selon la LQ | Teneur blanc (µg/g) | Ecart-type | Teneur selon la LQ |
| BPA | 0,0017 | 0,0015 | <LQ | 0,0024 | 0,0001 | 0,0024 |
| NP1EC | 0,0004 | 3,E-05 | <LQ | 0,0002 | 0,0001 | <LQ |
| 4-OP | 0,0000 | 0 | <LQ | 0,0007 | 0,0003 | <LQ |
| OP1EO | 0,0002 | 0,0001 | <LQ | 0,0003 | 0,0001 | <LQ |
| OP2EO | 0,0001 | 0,0001 | <LQ | 0,0000 | 0 | <LQ |
| 4-NP | 0,0146 | 0,0039 | 0,0146 | 0,0136 | 0,0086 | 0,0136 |
| NP2EO | 0,0021 | 0,0004 | 0,0021 | 0,0002 | 0,0001 | <LQ |
| NP1EO | 0,0008 | 0,0007 | <LQ | 0,0003 | 0,0004 | <LQ |

- **Incertitudes de mesure**

Les analyses des MPO des échantillons composites n'ont pas pu être réalisées en triplicata en raison des coûts analytiques élevés. Ainsi, pour avoir une estimation de l'incertitude associée aux mesures, le sable, Rainclean et sédiments issus de la campagne T2 de l'amont du filtre FR ont été analysés en **5 répétitions** chacun ; ils ont subi toutes les étapes décrites avant. Les incertitudes ont été calculées selon l'équation (éq. (1)) sous forme de coefficients de variation et sont présentées dans le Tableau 2-18 (résultats détaillés en Annexe 2-9A).

$$\text{Coefficient de variation (\%)} = \frac{\text{Ecart-type}}{\text{Moyenne}} * 100 \quad (1)$$

Les incertitudes élevées (supérieures à 25 %) correspondent aux composés dont les teneurs mesurées étaient inférieures à la LQ (Annexe 2-9A). C'était le cas pour l'OP1EO, le NP1EO et le NP1EC.

Tableau 2.18 : Incertitudes associées aux analyses d'alkylphénols et Bisphénol-A.

| Composé | Incertitude (+ ou -) en % | | |
|---------|---------------------------|-------|-----------|
| | Sédiment | Sable | Rainclean |
| BPA | 17,6 | 4,7 | 12,2 |
| NP1EC | 26,5 | 18,8 | 26,5 |
| OP | 14,3 | 18,5 | 15,4 |
| OP1EO | 26,4 | 33,8 | 73,9 |
| OP2EO | 16,8 | 17,6 | 12,9 |
| 4-NP | 18,7 | 15,0 | 5,2 |
| NP2EO | 24,9 | 13,7 | 16,2 |
| NP1EO | 9,7 | 29,7 | 23,6 |

VII-2.3.5. Analyse des phtalates : Chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS)

Le chromatographe en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS, Thermo Trace GC - Quantum XLS Ultra, colonne Restek RTX5SIL-MS (15 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm df) est tombé en **panne** dès 2021. Ainsi, l'analyse des phtalates n'a finalement **pas pu être réalisée** dans cette thèse. Les échantillons extraits ont été conservés pour des analyses ultérieures, lorsque l'appareil sera réparé.

VII-2.3.6. Traitement des données

L'analyse en UPLC-MS-MS permet d'obtenir des aires de pics pour chaque composé (AP/BPA). Pour le calcul des teneurs (µg/g sec ou mg/kg sec) dans les échantillons, une macro Excel développée en interne et validée par la cellule technique du LEESU a été utilisée. L'aire des étalons internes d'injection ainsi que les rendements d'extraction des étalons internes d'extraction sont considérés. En effet, dans un premier temps, les composés sont quantifiés selon le rapport de l'aire du composé quantifié et de l'aire de son étalon d'injection. Puis, le passage de l'aire à la teneur se fait à l'aide de la gamme d'étalonnage. Ensuite, les teneurs obtenues sont corrigées avec les rendements d'extraction et à la prise d'essai des échantillons (les rendements moyens sont fournis en Annexe 2-9B). Un rendement faible augmentera les teneurs. Lorsque la valeur du blanc est supérieure à la LQ, les valeurs des échantillons sont corrigées avec les valeurs moyennes de tous les blancs de procédure, et les résultats sont finalement comparés aux LQ.

VII-2.3.7. Particularité concernant les essais de biodégradation : analyse du 4-NP, 4-OP et BPA seulement

Lors des essais de biodégradation, seuls les alkylphénols et le bisphénol-A ont été étudiés. Dans le cadre de l'analyse des AP et BPA seuls (sans analyse des phtalates), le protocole est **légèrement différent** de celui décrit précédemment.

● **Extraction des AP/BPA** : Pour l'extraction des AP et BPA, le volume et les solvants utilisés sont les mêmes. L'échantillon est directement soumis au micro-ondes selon la méthode d'extraction des AP/BPA, sans passer par l'extraction des PAE. La filtration et l'évaporation se déroulent de la même façon que précédemment.

● **Purification des AP/BPA** : C'est au niveau de la purification que le protocole change en absence d'analyse des PAE. En effet, des cartouches en verre doivent absolument être utilisées en présence de PAE pour limiter leur adsorption. Sans leur analyse, des cartouches *SPE OASIS® HLB (200 mg/6 mL, Waters)*, sont alors utilisées

Les cartouches sont d'abord conditionnées avec 3 mL de MeOH, puis 3 mL de mélange H₂O-UP/MeOH 80/20 (v/v) puis 3 mL de H₂O-UP et elles sont enfin séchées pendant 30 minutes. Les échantillons (évaporés à sec puis remis en solution avec 500 µL du mélange MeOH/H₂O-UP 50/50) sont ensuite déposés sur les cartouches et sont enfin élués avec 9 mL d'un mélange de solvants MeOH/DCM/EtAc

40/40/20 (v/v/v). Les échantillons obtenus purifiés sont conservés tels quels au congélateur jusqu'à analyse.

● **Analyse des AP/BPA** : Enfin, la préparation pour l'analyse à l'UPLC-MS-MS est la même que celle décrite précédemment : 50 µL d'étalon interne d'injection sont ajoutés, les échantillons sont évaporés à sec, puis remis en solution dans 1 mL de phase mobile A/B 50/50.

Dans cette étude de biodégradation, le 4-NP et 4-OP ont été analysés uniquement pour la famille des AP. Ainsi, les étalons internes d'injection et les solutions des gammes ont été réalisés sans tous les autres composés (en gardant les mêmes concentrations).

Enfin, des blancs (extraction de solvant sans échantillon solide) ont également été analysés en utilisant ce protocole pour évaluer toute contamination au cours de la procédure analytique. Le contenu moyen des blancs pour ces analyses (13 blancs au total) est représenté dans le Tableau 2.19. Les blancs moyens sont plus contaminés ici que lors des analyses des échantillons composites des trois campagnes, aucun n'est inférieur à la LQ. Cependant, la contamination des blancs reste faible. La plus forte « contamination » des blancs pourrait s'expliquer par l'utilisation des cartouches en plastique Oasis.

Tableau 2.19 : Teneurs moyennes en BPA, 4-NP et 4-OP dans les blancs d'extraction.

| Composé | Teneur blanc (µg/g) |
|---------|---------------------|
| BPA | 0,0065 (0,0047) |
| 4-NP | 0,0408 (0,0270) |
| 4-t-OP | 0,0056 (0,0046) |

Pour ces essais de biodégradation, des échantillons **liquides** ont également été récupérés. La préparation de ces échantillons pour l'analyse des BPA, 4-NP, 4-OP est moins lourde. Les échantillons (1 mL) sont tout d'abord filtrés à l'aide de filtres seringues en PTFE de 0,2 µm et directement introduits dans le vial de LC-MS. 50 µL de l'échantillon liquide sont retirés et 50 µL d'étalon d'injection sont placés (pas d'ajout d'étalon d'extraction car aucune extraction n'est réalisée). Les échantillons sont prêts pour analyse. Si une dilution doit être réalisée, une partie du volume d'échantillon est remplacée par la phase mobile A/B (50/50).

VII-3. Analyses microbiologiques et biochimiques

L'étude des **communautés microbiennes** présentes, leurs activités et leurs évolutions dans le temps et l'espace, s'est réalisée au travers de trois axes d'études (Figure 2.19) :

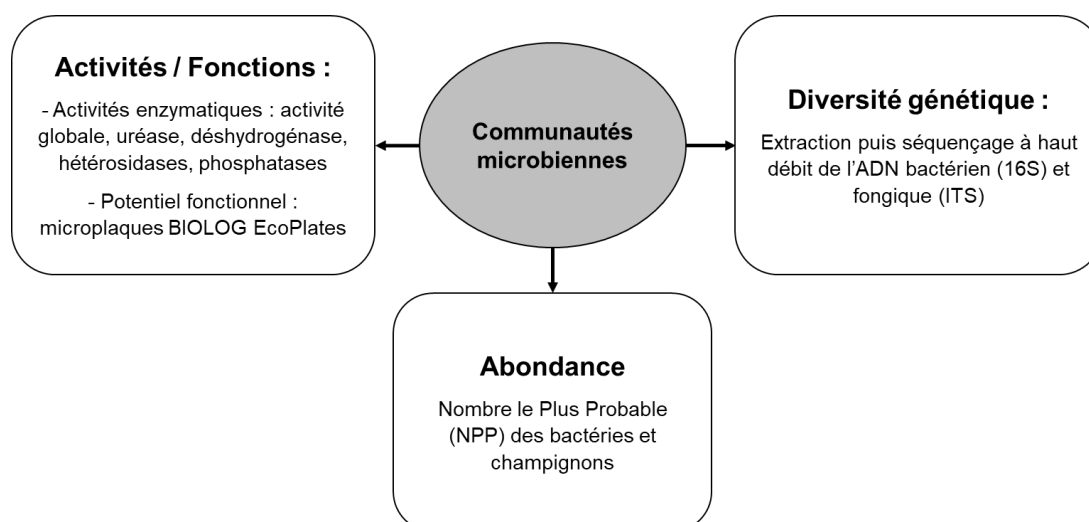


Figure 2.19 : Les trois axes d'étude des communautés microbiennes dans les échantillons composites

- Etude de l'**abondance** des bactéries et champignons, c'est-à-dire la quantité d'individus.
- Etude de leur **activité** et **potentiel fonctionnelle**, c'est-à-dire leur capacité à dégrader différentes sources de carbone, azote, phosphore, donc leur rôle dans les cycles biogéochimiques.
- Etude de leur **diversité génétique**, c'est-à-dire les populations présentes et leur diversité.

Les analyses ont majoritairement été réalisées au LEESU. Certains dosages enzymatiques ont été réalisés avec le laboratoire IEES-Paris équipe ESEAE, et la diversité génétique a été analysée par le laboratoire d'analyses Eurofins Genomics (Allemagne).

VII-3.1. Abondance : estimation de la biomasse bactérienne et fongique par la méthode du Nombre le plus Probable (NPP) en microplaque

Tout d'abord, l'abondance microbienne devait être réalisée par la méthode empirique de la respiration induite par substrat (SIR) (*Anderson et Domsch, 1978*), qui consiste à enrichir un échantillon en eau avec du glucose, et à doser pendant 24 h la production de CO₂ liée à la respiration bactérienne. A l'aide d'une équation empirique, il était alors possible de rapporter la production à l'abondance microbienne. Cependant, l'application de cette méthode sur le Rainclean n'a pas été possible. En effet, il absorbait le CO₂ et provoquait donc une diminution de celui-ci dans les microcosmes en raison de sa nature très alcaline. Ainsi, il n'a pas été possible d'estimer la biomasse microbienne de ces échantillons par cette méthode. Une autre méthode a été testée, la cytométrie de flux (*Porter et al., 1997*), permettant de compter le nombre de cellules en suspension dans un flux grâce à une lumière émise par l'appareil. Mais en raison de présence trop importante de particules fines dans les échantillons (surtout le sédiment), la méthode n'était pas applicable également car le comptage était brouillé.

La méthode du **Nombre le Plus Probable (NPP) en microplaques** permet l'estimation de la biomasse cultivable, donc la concentration de bactéries ou champignons cultivables/viables dans un échantillon grâce à leur croissance en milieu liquide selon différentes dilutions dans des microplaques de 96 puits (*Sutton, 2010*). Elle a été initialement développée en 1915 (*McCrary, 1915*) et a été améliorée et développée en microplaques par la suite. Cette méthode a été utilisée pour déterminer l'abondance bactérienne et fongique des échantillons.

Le principe est le suivant. Tout d'abord, 1 g d'échantillon de substrat est pesé dans un tube Falcon stérile de 15 mL et mis en suspension dans 9 mL d'une solution de chlorure de sodium (NaCl à une concentration de 9 g/L) stérile (autoclave *Tuttnauer 5075 MLV*, 121°C, 1,2 bar, 21 minutes). La suspension est mise à agiter pendant 1 heure à 40 rpm pour extraire les microorganismes, puis est centrifugée 5 minutes à 3000 rpm (*centrifugeuse G412, Juan*) afin de limiter les particules en suspension. A partir de cette solution mère de microorganismes (dilution du sol au 10^{ème}), une série de dilutions en cascade est réalisée : dilutions 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴ et 10⁻⁵ (1 mL de la solution mère dans 9 mL de NaCl, puis 1 mL de la solution fille 10⁻¹ dans 9 mL de NaCl etc.) de l'échantillon.

Deux milieux de cultures sont préparés pour cultiver les bactéries et les champignons séparément. Pour la culture des bactéries, le milieu LB broth est utilisé (20 g/L) (*Luna & Bertanil, VWR Chemicals*). Afin d'empêcher la croissance de champignons, un fongicide est ensuite ajouté à ce milieu, la fongizone (*Amphotericin B, Lonza*), à une concentration de 100 mg/L. Pour la culture des champignons, le milieu de culture utilisé est l'extrait de malt (12 g/L) (*VWR Chemicals*). Afin d'empêcher la croissance des bactéries, un antibiotique est rajouté à ce milieu, l'ampicilline (*Alfa Aesar*) à une concentration de 100 mg/L (filtrée à 0.2 µm pour la stérilisation).

Une fois les milieux de culture et les microorganismes prêts, l'ensemencement peut débuter. Pour cela, sous un Poste de Sécurité Microbiologique (PSM, hotte permettant la stérilité), des microplaques de 96 puits stériles sont utilisées (*microplaques plates, Sarstedt*). Dans chaque puit, 180 µL de milieu de culture préparés sont mis et 20 µL de chaque dilution d'échantillon sont rajoutés. Des blancs sont également réalisés en ajoutant uniquement 200 µL du milieu de culture. Le plan de plaque est représenté sur la Figure 2.20A, une plaque permet donc d'analyser deux échantillons, avec 8 répétitions par dilution.

Les microplaques sont ensuite fermées avec du Parafilm (limitation de l'évaporation), puis mises à incuber en étuve (*IPP110, Memmert*) à 25°C dans l'obscurité, pendant 3 jours pour la culture des

bactéries, et pendant 6 jours pour la culture des champignons (développement plus lent). Le développement des microorganismes est suivi tous les jours au travers de la mesure du trouble, appelée densité optique, par un spectrophotomètre lecteur de microplaques *Multiskan FC* (Thermo Scientific) à la longueur d'onde 620 nm donnant alors une valeur d'absorbance pour chaque puit. Un exemple de résultat est donné sur la Figure 2.20B.

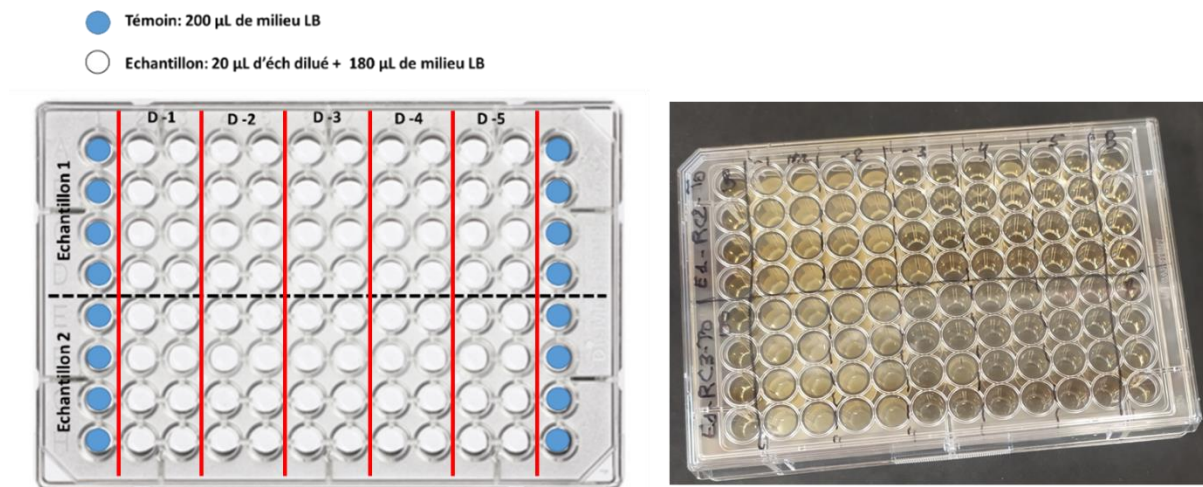


Figure 2.20 : Plan de plaque pour l'étude du NPP de bactéries ou de champignons (A), et exemple de résultat obtenu après 3 jours d'incubation (bactéries) (B). Une diminution du nombre de puits trouble est observée de gauche à droite.

Traitement des données :

Les valeurs moyennes de chaque blanc sont utilisées pour soustraire l'absorbance liée au milieu dans les échantillons, et les valeurs au temps initial des échantillons sont également soustraites pour s'affranchir de la coloration du sol. Puis, un puit est considéré comme positif (développement significatif des bactéries ou champignons) lorsque son absorbance corrigée est supérieure à une absorbance de 0,05. Cela permet d'obtenir le nombre de puits positifs par dilution. Le calcul du NPP est ensuite réalisé à l'aide de la macro Excel développée par *Jarvis (2010)*. En fournissant les volumes et les dilutions réalisés, ainsi que le nombre de puits positifs par dilution, la macro calcule alors le Nombre le Plus Probable de bactéries ou champignons et son écart-type. Pour finir, les résultats fournis sont rapportés à la dilution initialement faite (solution mère), puis à la masse de substrat sec utilisée. Les résultats sont exprimés en nombre de bactéries ou champignons par gramme de sol sec.

VII-3.2. Fonctions : dosage d'activités enzymatiques

Les enzymes du sol sont **d'origine principalement microbienne** (microorganismes vivants et morts) et elles sont importantes dans les sols car elles sont des **médiateurs et catalyseurs de différents processus biogéochimiques importants dans le fonctionnement du sol** : dégradation des molécules organiques et de leur minéralisation, cycle des nutriments, décomposition et formation des matières organiques, décomposition de xénobiotiques, fixation de l'azote etc. (Godden, 1998 ; Asensio et al., 2010). Il existe différentes familles d'enzymes : les oxydoréductases et les hydrolases, les dernières ayant reçu plus d'attention. Leur mesure permet d'apprécier la qualité biologique dans les échantillons (*Chaussod et Breuil, 1996*).

Pour cette partie, le principe de mesure de toutes les activités enzymatiques présentées est similaire : ajout d'un substrat à dégrader aux échantillons, incubation (dégradation du substrat ajouté par les enzymes du sol) puis mesure de la coloration (absorbance au spectrophotomètre) liée à la couleur du produit de réaction lors de la dégradation du substrat. Il s'agit donc des **essais**. Pour évaluer la coloration uniquement liée aux échantillons et aux substrats ajoutés, mais également pour limiter les faux positifs, deux **témoins** doivent être réalisés :

- **Témoin échantillon** : l'échantillon sans ajout de substrats, pour évaluer la coloration à la longueur d'onde d'intérêt liée à l'échantillon.

- **Témoin substrat** : pas d'échantillon, seulement les volumes de solution de substrats à dégrader sont ajoutés, pour évaluer la coloration liée au substrat ajouté dans l'échantillon. Les essais et témoins sont toujours réalisés avec **3 répétitions** minimum.

Un **blanc d'analyse** est systématiquement réalisé pour la calibration de l'appareil, en ne mettant ni échantillon, ni substrat à dégrader. Le volume total est toujours similaire entre ces différentes modalités pour être comparable, donc ce qui n'est pas mis est remplacé par de l'eau ou du tampon selon l'analyse (Tableau 2.20). Pour finir, une **gamme d'étalonnage** reliant l'absorbance du produit de dégradation du substrat à sa concentration est toujours réalisée.

Tableau 2.20 : Utilisation ou non de l'échantillon, du tampon (ou eau) et du substrat selon les différentes modalités. Une croix signifie que le composant a été mis dans la modalité.

| Composants | Essai | Ajout ou non selon la modalité | | |
|-------------|-------|--------------------------------|-----------------|-------|
| | | Témoin échantillon | Témoin substrat | Blanc |
| Echantillon | X | X | Eau | - |
| Tampon/Eau | X | X | X | X |
| Substrat | X | Eau | X | - |
| Répétition | 3 à 5 | 3 à 5 | 3 | 1 |

VII-3.2.1. Les oxydoréductases

Les oxydoréductases sont des d'enzymes de type respiratoire dont la plus courante est la **déshydrogénase** (ensemble de plusieurs enzymes), qui permet une estimation rapide de l'activité globale du sol. En effet, ces enzymes sont vite dégradées hors des cellules, ce qui permet d'évaluer l'activité de cellules microbiennes intactes, donc vivantes (Kumar *et al.*, 2013). Les systèmes enzymatiques déshydrogénase jouent un rôle important dans l'oxydation de la matière organique du sol (Tabatabai, 1994). La méthode utilisée est adaptée de celle initialement développée (Lenhard, 1956). Le principe repose sur l'ajout d'une solution de 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) aux échantillons et dont l'incubation va permettre la réduction du TTC en 1,3,5-triphenyltetrazolium formazan (TPF) par les enzymes des échantillons. En rajoutant finalement du méthanol, le TPF est extrait et coloré en rouge, dont l'intensité est mesurée à 485 nm.

Le protocole est le suivant. Tout d'abord, **0,5 g** d'échantillon est pesé dans des tubes Falcon stériles de 15 mL (3 répétitions par échantillon), et les microorganismes sont « réactivés » en humidifiant les échantillons à 70 % de leur capacité au champ (eau distillée stérile). Ils sont incubés 24 h en étuve (IPP110, Memmert) à 27 °C. Les réactifs sont ensuite préparés ; 0.3 g de TTC est pesé et 10 g d'eau distillée stérile est ajoutée (solution à 3 %). Du glucose est également ajouté afin de faciliter la réaction en pesant 0.1 g dans 10 g de la même eau (solution à 1 %). Après la réactivation des échantillons, 100 µL et 250 µL de solution de TTC et glucose respectivement sont rajoutés aux échantillons. Pour évaluer la coloration liée au TTC, les témoins substrat sont réalisés, sans échantillons, avec le TTC et glucose seulement. Afin d'évaluer la coloration liée aux échantillons, les témoins sont réalisés en mettant le sol et 350 µL d'eau distillée stérile. Enfin le blanc est réalisé en ne mettant que 350 µL d'eau distillée. Tous les tubes sont ensuite incubés pendant 72 heures à 27 °C et à l'obscurité, dans une étuve avec plaque d'agitation à 100 rpm (Multitron Standar, Inforst HT). A la fin de l'incubation, 5 mL de Méthanol sont ajoutés dans tous les tubes et ils sont ensuite agités à 40 rpm pendant 5 min pour bien homogénéiser. Puis, les tubes sont laissés au repos pendant 5 heures à l'obscurité afin de provoquer la réaction de coloration avec le méthanol. Enfin, les échantillons sont centrifugés 5 minutes à 3000 rpm puis l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 485 nm (Genesys 10 UV scanning, Thermo Scientific).

Finalement, pour relier l'absorbance des échantillons à une concentration de TPF produit, une gamme d'étalonnage est réalisée. Les concentrations en TPF ainsi qu'un exemple de gamme obtenue sont présentés sur les Annexes 2-10 et 2-15.

VII-3.2.2. Les hydrolases

La plupart des enzymes du sol appartiennent à ce groupe. Il y a les **hétérosidases** (B-glucosidase, α -glucosidase, B-xylosidase etc) qui catalysent l'hydrolyse de différents glycosides (libérant alors des mono ou polysaccharides) participant alors au cycle du carbone. Il y a également les **phosphatases** (acides et alcalines) qui catalysent l'hydrolyse des esters et anhydrides de H_3PO_4 (Tabatabai, 1994) participant alors au cycle du phosphore, ou encore l'**uréase** qui est impliquée dans l'hydrolyse de l'azote organique, l'urée participant alors au cycle de l'azote. Il existe également une technique de dosage de l'**activité enzymatique totale** du sol par la mesure de l'hydrolyse de la fluorescéine di-acétate (FDA). C'est une molécule qui peut être hydrolysée par de nombreuses enzymes produites par les bactéries et champignons et permet donc une mesure plus globale des activités enzymatiques.

● **Uréase**

La mesure de l'activité uréase représente le groupe d'enzymes permettant la décomposition de l'urée (composé organique) en dioxyde de carbone et ammonium (composé minéral). Il s'agit donc d'un groupe d'enzyme primordial dans le cycle de l'azote. La mise en évidence de l'activité uréase a été décrite par (Nannipieri et al., 1978), puis adaptée au laboratoire, notamment par Kandeler et Gerber (1988). Le principe repose sur l'ajout d'urée dans les échantillons dont l'incubation permet son hydrolyse en ammoniac (NH_3) qui s'équilibre dans la solution en ammonium (NH_4^+). Ce dernier est ensuite extrait par un mélange d'acide puis coloré en vert par réaction chimique avec une solution préparée et détaillée après. Cette couleur est finalement détectable à 665 nm.

Le protocole défini est le suivant. **1 g** d'échantillon est pesé dans des tubes Falcon stériles de 15 mL (3 répétitions par échantillon), et les microorganismes sont « réactivés » en humidifiant les échantillons à 70 % de leur capacité au champ (eau distillée stérile) et en les incubant pendant 24 h en étuve (IPP110, Memmert) à 27 °C. Les réactifs sont ensuite préparés ; d'abord, un tampon borate à 0.1 M (pH 10) avec du di-sodium-tétraborate et une solution d'urée à 720 mM (0.86 g dans 20 mL d'eau distillé) sont réalisés puis stérilisés (autoclave pour le tampon, filtration à 0.45 μ m pour l'urée). A la fin de l'incubation de réactivation, 0.5 mL d'eau distillée stérile est ajouté dans chaque tube, suivi de 2 mL de tampon borate et 250 μ L d'urée. Les témoins ne contiennent soit pas d'urée mais que du tampon, soit pas d'échantillon mais de l'urée et du tampon. Enfin, uniquement du tampon borate est mis dans le blanc.

Les échantillons sont ensuite mis à incuber 4 heures à 37 °C à l'obscurité dans une étuve avec plaque d'agitation à 100 rpm (Multitron Standar, Inforst HT) pour réaliser la dégradation de l'urée. A la fin de l'incubation 1,5 mL d'un mélange d'acides (solution de chlorure de potassium KCl 2 M avec 1 % d'acide chlorhydrique HCl 1 M dedans) est ajouté dans chaque tube pour stopper la réaction, puis ils sont agités 30 minutes à 40 rpm (homogénéisation) et enfin centrifugés 5 minutes à 3000 rpm (séparer le solide du liquide). Pendant les 30 minutes d'agitation, deux solutions pour colorer les échantillons sont préparées dans l'obscurité : une solution de salicylate de sodium (17 g de Na-salicylate et 120 mg de N-nitroprusside dans 100 mL d'eau) et de l'hydroxyde de sodium NaOH à 0.3 M sont préparés pour réaliser le **réactif « A »**, en mélangeant 100 mL de salicylate de sodium, 100 mL de NaOH et 100 mL d'eau distillée. L'autre solution, du **dichloro-isocyanurate de sodium** est préparée (0.1 g dans 100 mL d'eau distillée). Finalement, 0.5 mL de chaque tube centrifugé sont prélevés et mis dans de nouveaux tubes, et 2.5 mL de réactif A et 1 mL de dichloroisocyanurate sont finalement ajoutés dans chaque échantillon, le mélange de ces deux solutions permettant la formation d'un complexe coloré vert après 30 min d'agitation à 40 rpm à l'obscurité, proportionnel à la production d'ammonium. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 485 nm (Genesys 10 UV scanning, Thermo Scientific).

Enfin, pour relier l'absorbance des échantillons à une concentration d'ammonium produit, une gamme d'étalonnage est réalisée avec du NH_4Cl . Les concentrations en ammonium ainsi qu'un exemple de gamme obtenue sont présentés sur les Annexes 2-11 et 2-15.

● **Hétérosidases et phosphatases**

Il existe de nombreuses hétérosidases : β -glucosidase, α -glucosidase, B-xylosidase etc. Ces enzymes catalysent l'hydrolyse de liaisons glycosidiques de nombreux composés carbonés différents

(Tabatabai, 1994), elles peuvent également être appelées **glucosidases**. Ces enzymes sont nommées selon le type de liaison qu'elles hydrolysent : α -glucosidase (catalyse l'hydrolyse des α -D-glucopyranosides), β -glucosidase (catalyse l'hydrolyse de β -D-glucopyranosides) par exemple. Les produits d'hydrolyse des composés deviennent ensuite des sources d'énergie importante pour les microorganismes du sol, le dosage de ces enzymes permet donc d'évaluer leur participation au cycle du carbone. Le principe repose sur l'ajout d'un substrat contenant du **4-Nitrophényl (PNP)** et du glucose : 4-Nitrophényl-**X**-D-glucopyranosides ou 4-Nitrophényl-**X**-xylopyranosides (X pouvant être alpha, beta etc) selon l'enzyme dosée. L'hydrolyse de la liaison **X** entre le PNP et le sucre va être réalisée sous l'action des enzymes, libérant alors proportionnellement du PNP ayant une coloration jaune. La quantité de PNP libérée (équivalente à la quantité de sucre libéré) est ainsi déterminée en fonction de l'intensité de la couleur à la longueur d'onde 405 nm.

La phosphatase catalyse l'hydrolyse des esters et anhydres de H_3PO_4 . Les enzymes sont classées en phosphatases acides et alcalines car l'activité varie selon le pH, les acides seront prédominants dans les sols acides et inversement pour l'alcaline. Les phosphatases permettent la minéralisation du phosphore organique en ions orthophosphates (Godin et al., 2015). Cette mesure repose sur l'ajout du substrat 4-Nitrophényl phosphate di(tris) salt. L'hydrolyse de la liaison entre le PNP et le reste de la molécule est réalisée sous l'action des enzymes, libérant du PNP, quantifié ensuite de la même façon que les hétérosidases.

La mise en évidence de ces activités enzymatiques a été notamment réalisée par Tabatabai (1982), et ces dosages ont été adaptés par la suite en **microtubes** par le IEES (Guenet et al., 2012). Dans cette étude, les activités enzymatiques suivantes ont été dosées : β -glucosidase, α -glucosidase, phosphatase acide, phosphatase basique

La mesure de toutes les activités hétérosidases et phosphatases est réalisée en même temps, à l'aide de microplaques de 96 puits (Greiner Bio-One). Tout d'abord, les échantillons sont préparés pour l'analyse : 1 g est pesé et 5 mL d'eau distillée glacée est rajouté. Le tout est vortexé, puis aliquoté dans 3 Eppendorf de 2 mL et mis au congélateur jusqu'à analyse (même volume de sol et suspension dans chaque tube). Cela permettra de pipeter l'échantillon dans sa solution pour le placer dans les puits de microplaque. Puis des tampons sont préparés selon le pH des échantillons, le tampon borate de sodium – acide chlorhydrique a été utilisé dans notre cas en raison du caractère alcalin des échantillons. Il s'agit d'un mélange d'HCl à 0,1 M et de tétra-borate de sodium decahydraté à 0,1 M en proportions variables pour obtenir le pH souhaité (Annexe 2-12). En plus des tampons au pH du sol, deux tampons au pH 5 (tampon citrate/phosphate, Annexe 2-12) et 10 (tampon HCl-Borate) sont préparés pour les phosphatases acides et basiques. Les solutions mères de substrats pour le dosage des activités sont préparées à partir de poudres de PNP α glucopyranosydes, PNP β glucopyranosydes et PNP phosphate di(tris) salt pour les activités α -glucosidase, β -glucosidase et phosphatases (acide/alcaline) respectivement : 0,1 g sont pesés dans 10 mL d'eau distillée (10 g/L).

La microplaque à fond rond est divisée comme suit : 5 répétitions de chaque essai (pour chaque enzyme), 5 répétitions du témoin échantillon au pH du sol, puis au pH acide et alcalin pour les phosphatases, 3 répétitions de chaque témoin substrat au pH souhaité, et 1 blanc. Pour chaque échantillon, les 4 activités enzymatiques sont dosées sur une même microplaque, ainsi, 2 échantillons sont dosés par microplaque. Pour les essais, 50 μ L de suspension d'échantillon est utilisé, puis 25 μ L de tampon au pH souhaité et 50 μ L de substrat sont rajoutés. Pour les témoins substrat, le volume d'échantillon est remplacé par de l'eau distillée. Pour les témoins échantillon, le volume de substrat est remplacé par de l'eau distillée. Enfin, le blanc est composé de 25 μ L de tampon et 100 μ L d'eau distillée. Une fois tous les substrats placés, les microplaques sont incubées pendant 2 h à 37 °C dans une étuve de microplaques sous agitation à 200 rpm (GFL 3032, Gemini). Après incubation, 125 μ L de carbonate de sodium Na_2CO_3 (2% dans de l'eau distillée) sont ajoutés dans chaque puit pour stopper la réaction, puis les microplaques sont centrifugées 10 min à 1500 rpm à 4 °C (AFI-C200R-E, LISA). Enfin, dans une seconde microplaque à fond plat contenant 250 μ L de Na_2CO_3 (2%), 50 μ L du surnageant de la première microplaque sont transférés. L'absorbance de chaque puit peut finalement être mesurée à la longueur d'onde 405 nm (SAFAS Monaco, Xenius XML).

Pour finir, une gamme d'étalonnage du PNP est réalisée pour relier l'absorbance et la concentration de toutes ces activités enzymatiques. Les concentrations utilisées ainsi qu'un exemple de gamme sont donnés sur les Annexes 2-13 et 2-15.

● **Activité enzymatique totale**

L'activité enzymatique totale représente l'ensemble des activités enzymatiques (vivantes et mortes) de ce sol. Elle peut être mesurée grâce à l'Hydrolyse de la Fluorescéine Di-Acétate (HFDA), selon la méthode développée par *Green et al. (2006)*, puis adaptée en microplaques par le IEES (*Guenet et al., 2012*). Le principe est d'ajouter de la FDA dans les échantillons, qui est ensuite hydrolysée par les enzymes en fluorescéine, molécule jaune fluorescente qui peut être mesurée par spectrophotométrie. Ainsi, plus l'activité enzymatique du sol est importante, plus les molécules de fluorescéine sont libérées. De nombreuses enzymes du sol peuvent hydrolyser ce composé, tels que les protéases, lipases et estérases (*Green et al., 2006*).

Comme pour les Hétérosidases et phosphatases, cette activité enzymatique a été réalisée dans des microplaques de 96 puits, au pH des échantillons. Le protocole utilisé est le suivant. Les échantillons de substrats aliquotés et conservés au congélateur sont décongelés et les mêmes tampons que le dosage des hétérosidases/phosphatases sont utilisés. La solution mère de FDA est réalisée à une concentration de 30 g/L en la dissolvant dans de l'acétone, puis une dilution au 10^{ème} de cette solution est réalisée dans de l'eau distillée (solution à 3 g/L).

La microplaque à fond rond est divisée comme suit : 5 répétitions de l'essai, 5 répétitions du témoin échantillon, 3 répétitions du témoin substrat par pH utilisé et 1 blanc. Cela permet de réaliser le dosage de 8 échantillons par microplaque. Pour les essais, 100 µL de la suspension d'échantillon sont utilisés, puis 50 µL de tampon et enfin 50 µL de la solution fille de FDA sont rajoutés. Pour les témoins substrat, le volume de l'échantillon est remplacé par de l'eau distillée. Pour les témoins échantillon, le volume de substrat est remplacé par de l'eau distillée. Enfin, le blanc est composé de 50 µL de tampon, et 150 µL d'eau distillée. Puis, les microplaques sont incubées pendant 2 h à 37 °C dans une étuve de microplaques sous agitation à 200 rpm (*GFL 3032, Gemini*), pour être ensuite centrifugées 10 min à 1500 rpm à 4 °C (*AFI-C200R-E, LISA*). Enfin, dans une seconde microplaque à fond plat contenant 100 µL de tampon glacé, 100µL du surnageant de la première microplaque sont transférés. L'absorbance de chaque puit peut ainsi être mesurée à la longueur d'onde 490 nm (*SAFAS Monaco, Xenius XML*).

Pour finir, une gamme d'étalonnage de la fluorescéine est réalisée pour relier l'absorbance et la concentration. Les concentrations utilisées ainsi qu'un exemple de gamme sont donnés sur les Annexes 2-14 et 2-15.

VII-3.2.3. Traitement des données

Pour tous les dosages d'activités enzymatiques, l'absorbance des deux témoins est soustraite à celle des essais pour s'affranchir de leur coloration respective. Puis, la concentration en produit de réaction (fluorescéine, TPF, PNP, NH₄) formé est calculée grâce à la gamme d'étalonnage et est rapporté au volume de solution dans les tubes/microplaques, dans lequel une quantité d'échantillon a été mise. Enfin, le tout est rapporté à la masse d'échantillon sec utilisée puis au temps d'incubation. Ainsi, les résultats sont exprimés en quantité (de molécule du produit de réaction) par gramme d'échantillon sec et par heure. Une synthèse de toutes les activités dosées et leurs unités respectives est fournie sur le Tableau 2.21.

Tableau 2.21 : Récapitulatif des différentes activités enzymatiques dosées, ainsi que leurs fonctions, leur rôle dans les cycles biochimiques, leur origine et les unités utilisées pour les exprimer.

| Famille | Enzyme | Fonction | Cycle biochimique associé | Origines | Unité |
|------------------------|---|---|---|--|---|
| Oxydoréductases | Déshydrogénases | Catalyse l'oxydation des composés organiques : hydrolyse des liaisons H des substrats pour les réactions de réduction | Métabolisme général | Microorganismes | $\mu\text{g TPF/g sec/h}$ |
| Hydrolases | Phosphatase acide et alcaline | Catalyse l'hydrolyse de phosphate organique en orthophosphates | Cycle du phosphore | Acide : exsudats racinaires et microorganismes ; Basique : microorganismes | $\mu\text{g PNP/g sec/h}$ |
| | Uréase | Catalyse l'hydrolyse de l'urée en ammoniac et CO_2 | Cycle de l'azote | Microorganismes, plantes et animaux | $\mu\text{g NH}_4\text{/g sec/h}$ |
| | β-glucosidase α-glucosidase Activité enzymatique totale | Catalyse l'hydrolyse de liaisons glucidiques Catalyse l'hydrolyse de la FDA en fluorescéine | Cycle du carbone Métabolisme général | Bactéries, champignons Microorganismes | $\mu\text{g PNP/g sec/h}$ $\mu\text{g fluorescéine/g sec/h}$ |

VII-3.3. Fonctions : potentiel fonctionnel avec les microplaques BIOLOG EcoPlates

La diversité fonctionnelle correspond aux composants de la biodiversité qui influencent les fonctions des écosystèmes par les traits fonctionnels (Tilman, 2001). Sa mesure permet notamment de renseigner sur la redondance des fonctions. La mesure du potentiel fonctionnel a été étudiée à l'aide de microplaques *Biolog EcoPlatesTM* (Biolog Inc., CA, USA). Elles permettent de comparer les communautés microbiennes selon leur potentiel fonctionnel (Faulwetter et al., 2009).

Il s'agit de microplaques constituées de 31 substrats carbonés (certains azotés également) et d'un blanc, le tout répété trois fois sur une plaque de 96 puits (Figure 2.21A). Les substrats appartiennent à différentes familles de composés carbonés, 5 au total, visibles sur le Tableau 2.22. Chaque puit comprend, en plus du substrat, du chlorure de tetrazolium. Il s'agit d'un composé incolore qui, une fois réduit, donne du formazan, un composé de couleur violette. Ainsi, en ajoutant des microorganismes, la métabolisation plus ou moins importante des substrats dans les puits va provoquer cette réduction et donc une coloration, dont l'absorbance (proportionnelle à la dégradation) pourra être mesurée à 570 nm (Figure 2.21B). Cette mesure permet donc d'observer si les micro-organismes présents dans les échantillons ont des capacités différentes à dégrader ces substrats ou non, et de mettre en évidence des profils d'utilisations de sources de carbone différents (Garland et Mills, 1991).

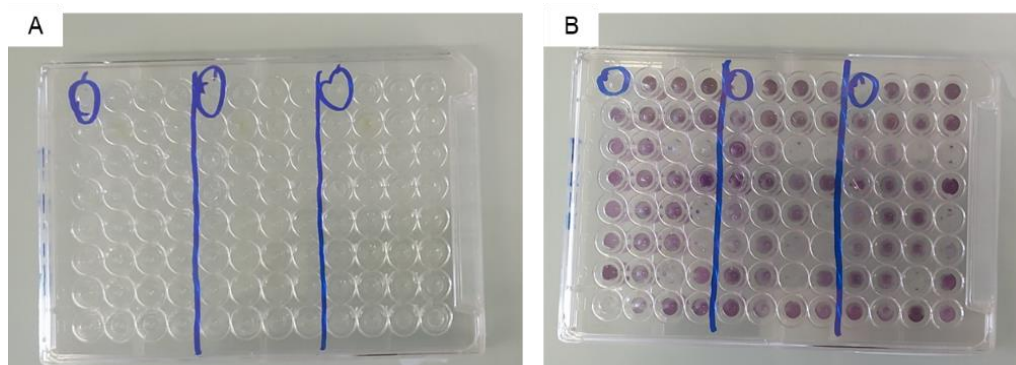


Figure 2.21 : La microplaque BIOLOG EcoPlates utilisée. A : avant incubation. B : après incubation avec les échantillons. Les trois blancs sont entourés et les lignes séparent les trois répétitions.

Le protocole d'analyse est le suivant. Dans un premier temps, 1 g d'échantillon de substrat est pesé dans un tube Falcon stérile de 15 mL et mis en suspension dans 9 mL d'une solution de chlorure de sodium (NaCl à une concentration de 9 g/L) stérile (autoclavage 121 °C, 1,2 bar, 21 minutes). Il s'agit donc d'une solution mère diluée au 10^{ème}. La suspension est mise à agiter pendant 1 heure à 40 rpm pour extraire les microorganismes, puis est centrifugée 5 minutes à 3000 rpm (centrifugeuse G412, Juan) afin de limiter les particules en suspension. Le surnageant est ensuite récupéré, et une dilution au 100^{ème} est réalisée dans le NaCl (50 mL préparés). Enfin, les microplaques peuvent être ensemencées. Pour cela, 150 µL de NaCl est mis dans les 3 puits correspondants aux blancs, et 150 µL de surnageant dilué est mis dans tous les autres puits à l'aide d'une pipette multicanaux.

Finalement, les plaques sont entourées de Parafilm et sont incubées à 25°C (IPP110, Memmert) pendant 168 heures (7 jours), et à 0, 24, 48, 72, 96, 120 et 168 heures (pas de temps des microplaques), l'absorbance à 595 nm est mesurée par un spectrophotomètre lecteur de microplaque *Multiskan FC* (Thermoscientific).

Tableau 2.22 : Présentation de la composition d'une microplaque BIOLOG. Les différents substrats carbonés sont indiqués et coloriés selon leur famille de composé. Le tout est répété trois fois (puits 1 à 4, 5 à 8 et 9 à 12).

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---------------------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------|---|---|---|---|---|----|----|----|
| A | BLANC | β-Methyl-DGlucoside | D-Galactonic Acid γ-Lactone | L-Arginine | | | | | | | | |
| B | Pyruvic Acid Methyl Ester | D-Xylose | D-Galacturonic Acid | L-Asparagine | | | | | | | | |
| C | Tween 40 | i-Erythritol | 2-Hydroxy Benzoic Acid | LPhenylalanine | | | | | | | | |
| D | Tween 80 | D-Mannitol | 4-Hydroxy Benzoic Acid | L-Serine | | | | | | | | |
| E | α-Cyclodextrin | N-Acetyl-DGlucosamine | γ-Hydroxybutyric Acid | L-Threonine | | | | | | | | |
| F | Glycogen | D-Glucosaminic Acid | Itaconic Acid | Glycyl-LGlutamic Acid | | | | | | | | |
| G | D-Cellobiose | Glucose-1-Phosphate | α-Ketobutyric Acid | Phenylethylamine | | | | | | | | |
| H | α-D-Lactose | D,L-α-Glycerol Phosphate | D-Malic Acid | Putrescine | | | | | | | | |

| | | | | |
|---------------|-----------|------------------------------------|---------------|------------------|
| Carbohydrates | Polymères | Acides carboxyliques et cetoniques | Acides aminés | Amines et amides |
|---------------|-----------|------------------------------------|---------------|------------------|

Traitement des données :

Tous les résultats sont d'abord standardisés en soustrayant l'absorbance initiale des échantillons (au temps initial) et l'absorbance des blancs aux absorbances mesurées au cours de l'incubation. Puis, un puit est considéré comme positif si l'absorbance est supérieure à 0,25 (A et al., 2017).

Puis, plusieurs **calculs** peuvent être réalisés.

- Le développement moyen de la coloration des puits (Average Well Colour Development, AWCD) est calculé selon l'équation (éq. (2)) (Garland, 1996). Il s'agit d'une mesure représentant l'activité microbienne moyenne à un pas de temps de la cinétique donnée (défini pour être pendant la phase exponentielle des échantillons) pour tous les échantillons, soit à **5 jours** d'incubation. Il peut également être calculé à chaque pas de temps pour évaluer la cinétique globale de dégradation des substrats.

$$AWCD = \frac{\sum (A - A_0 - B)}{31} \quad (2)$$

- Le pourcentage de substrats carbonés dégradés à un pas de temps est également calculé en divisant le nombre de substrats positifs par le nombre total de substrats (31) et en multipliant par 100.
- Le pourcentage de substrats carbonés et l'AWCD selon les familles des sources de carbone.

Enfin, des calculs d'**indices de diversité** utilisés en écologie (détaillés dans le VII-3.4) peuvent également être appliqués à ces données (Xu et al., 2015) : indice de Shannon, de diversité Simpson, de régularité.

L'AWCD a été calculée pour chaque pas de temps de l'incubation des microplaques, et les autres calculs ont été appliqués au temps d'incubation de 5 jours.

VII-3.4. Diversité génétique des communautés microbiennes : biologie moléculaire

Afin d'évaluer la diversité génétique microbienne dans ce filtre, des **extractions** d'ADN microbien ont été réalisées sur les échantillons pour pouvoir ensuite le **séquencer**. Une seule répétition par échantillon a été réalisée en raison des coûts élevés du séquençage.

Dans un premier temps, l'**extraction d'ADN** a été réalisée sur **500 mg** d'échantillon à l'aide du kit d'extraction *FastDNA® Spin Kit for soil* (MP Biomedical, USA) en suivant les instructions du fabricant. Le protocole du fabricant est présenté en Annexe 2-16. Le principe de cette étape repose sur une attaque physique des membranes et parois des microorganismes par broyage en micro-tubes avec billes de silice, suivi d'une élimination des déchets solides par centrifugation, puis une purification de l'ADN par élimination des précipitations des protéines et centrifugation. L'ADN est ensuite fixé sur une résine et un lavage des éléments solubles restants sur colonne est réalisé. Une fois l'ADN des échantillons et les blancs extraits (sans échantillon), ils sont conservés au congélateur (-20°C) jusqu'à la prochaine étape.

Puis, une vérification de la qualité de l'extraction (présence d'ADN hormis pour le blanc) est réalisée par une **électrophorèse sur gel d'agarose à 1%**. Le principe est de faire migrer l'ADN (acides nucléiques chargés négativement) sous l'action d'un champ électrique, selon la taille des fragments et de le visualiser en le rendant fluorescent.

Pour cela, dans un premier temps, une solution saline permettant au courant électrique de circuler est préparée, le TAE (Tris/Acétate/EDTA), concentrée une fois à partir d'une solution déjà préparée, concentrée 50 fois. Le gel d'agarose à 1% peut ensuite être préparé en pesant 1 g d'agarose dans 100 g de TAE (concentré 1 fois). Il est chauffé au micro-onde pour dissoudre l'agarose, puis, 10 µL de l'intercalant Gel Red concentré 1 fois à partir d'une solution concentrée 10 000 fois est ajouté au mélange. Le gel d'agarose une fois gélifié permettra à l'ADN de migrer en son sein, et le Gel Red permet de rendre l'ADN fluorescent, donc visible lorsqu'il est exposé aux Ultra-violets. Les échantillons d'ADN peuvent maintenant être préparés ; pour qu'ils soient suffisamment denses pour migrer à travers le gel, du bleu de charge concentré deux fois à partir d'une solution concentrée 6 fois doit être rajouté aux échantillons. Pour cela, 2 µL est déposé sur du Parafilm, puis 2 µL d'ADN extrait est ajouté et mélangé à la goutte, et les 4 µL sont prélevés et insérés dans un puit du gel. Une fois tous les échantillons préparés, l'électrophorèse et la migration se fait pendant 30 minutes à une tension de 100 V (*Mini Gel II*, VWR). Une fois la migration terminée, les échantillons sont placés sur une plaque UV pour observer l'ADN ayant migré. La cuve d'électrophorèse ainsi qu'un exemple d'électrophorèse est présenté sur la Figure 2.22 La quantification de la quantité d'ADN extraite a également été vérifiée à l'aide du *Nanovue plus* (Biochrom) (1µL d'échantillon prélevé).

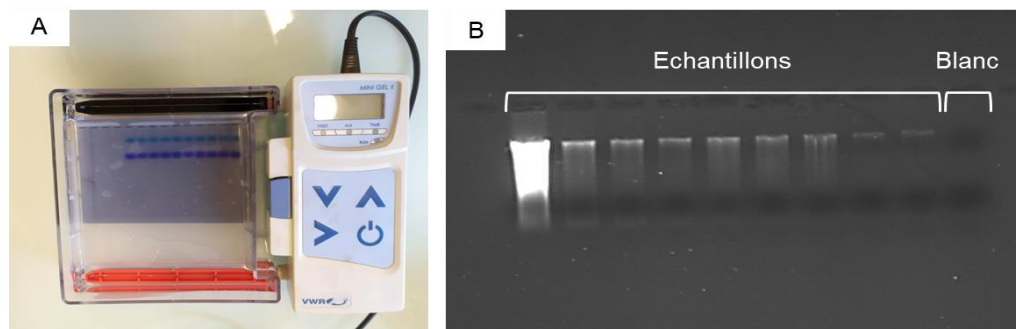


Figure 2.22 : Appareil utilisé pour réaliser l'électrophorèse (A) et exemple de résultat d'électrophorèse (B). Les échantillons contiennent plus ou moins d'ADN (intensité lumineuse) et le blanc n'en contient pas.

Enfin, les échantillons ont été envoyés au laboratoire d'analyses *Eurofins Genomics* afin d'être amplifiés puis séquencés. La composition des communautés microbiennes et fongiques a été analysée par séquençage à haut débit à l'aide de *Illumina MiSeq*. Pour les **bactéries**, les régions variables **V3-V4** du gène de l'ARNr 16S bactérien ont été amplifiées avec l'amorce forward 341F (TACGGGAGGCAGCAG) et l'amorce reverse 806R (CCAGGGTATCTAATCC). Pour les **champignons**, l'espace interne transcrit (Internal Transcribed Spacer) **ITS2** du gène de l'ARNr entre 5.8S et 26S a été amplifiée avec l'amorce forward ITS3 (GCATCGATGAAGAACGCAGC) et l'amorce reverse ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) (références internes Eurofins). Puis les produits PCR ont été séquencés.

Traitement des données :

Les séquences brutes ont ainsi été obtenues. Elles ont été traitées en collaboration avec le laboratoire BIAM, équipe LEMIRE, sous la direction de Wafa Achouak et Mohamed Barakat. Les séquences obtenues ont été traitées sur le logiciel open-source **QIIME2** (version 2021.11, <https://qiime2.org>) (Bolyen et al., 2019).

Dans un premier temps, les séquences brutes ont été filtrées selon leur score de qualité, puis débruitées (denoising) et les chimères ont été vérifiées (utilisation de DADA2, (Callahan et al., 2016)). Les séquences ont été alignées à l'aide de MAFFT (Kato et Standley, 2013), et ont été utilisées pour construire une phylogénie à l'aide de FastTree (Price et al, 2009). L'annotation taxonomique des variants de séquence d'amplicon (ASV) a été attribuée à l'aide de la base de données Greengenes 13_8 (McDonald et al., 2012) et de la commande feature-classifier avec les paramètres par défaut. Cela permet de connaître les différents **taxons** composant chaque échantillon d'ADN, mais également leurs **abondances relatives** aux différents rangs taxonomiques (embranchement, classe, ordre, famille, genre, espèce). La taxonomie microbienne des échantillons peut être évaluée à l'aide d'histogrammes des abondances relatives des taxons aux différents rangs taxonomiques ou encore à l'aide de cartes thermiques.

Puis, pour exprimer ces résultats obtenus en termes de diversité, des **indices de diversité alpha et bêta** ont été calculés sur QIIME 2. Dans un premier temps, pour éliminer l'hétérogénéité des échantillons, nous avons procédé à une raréfaction du nombre de séquences. L'approche de la raréfaction consiste à échantillonner au hasard le même nombre de séquences dans chaque échantillon et à utiliser ces données pour comparer les communautés à un niveau similaire de profondeur d'échantillonnage. Ainsi, tous les échantillons ont été normalisés au nombre minimal de séquences dans un échantillon observé, soit 32 638 et 58 815 séquences pour les bactéries et champignons respectivement, dans le cadre des trois campagnes de prélèvement. La saturation de la diversité est restée suffisante pour tous les échantillons (Figure 2.23).

La **diversité alpha** est la diversité **intra**-échantillon, la diversité propre à l'échantillon. Elle est caractérisée par différents indices (Shannon, 1948 ; Callahan et al., 2017 ; Willis, 2019 ; Faith, 1992), notamment :

- **Nombres de taxons observés** : nombre d'ASV différents obtenus, correspondant alors à la richesse de la communauté. Plus ce nombre est élevé, plus la richesse est élevée.

- **Indice de Shannon** : indice (éq. (3)) permettant d'évaluer la diversité spécifique de la communauté d'un échantillon. Cet indice prend en compte le nombre de taxons ainsi que leur répartition au sein de l'ensemble des taxons. Plus le nombre de taxons présents est différent, plus la valeur de cet indice augmente.

$$H' = - \sum_{i=1}^N P_i * \ln(P_i) \quad (3)$$

Où H' est l'indice de Shannon, Pi est la proportion d'un taxon i par rapport au nombre total de taxons différents N.

- **Indice d'équitabilité de Pielou** : indice (éq. (4)) permettant d'évaluer la régularité des taxons présents, c'est-à-dire à quel point chaque taxon est sur ou sous représenté en termes de nombre. Cet indice varie entre 0 et 1 et plus il se rapproche de 1, plus les taxons sont équilibrés en termes d'abondance.

$$E = H'/H_{max} \quad (4)$$

Où H' est l'indice de Shannon, H_{max} est la valeur maximale que peut avoir H' , lorsqu'un peuplement hétérogène va avoir tous les individus de toutes les espèces répartis d'une façon égale, N le nombre total de taxons différents : $H_{max} = \log_2 N$.

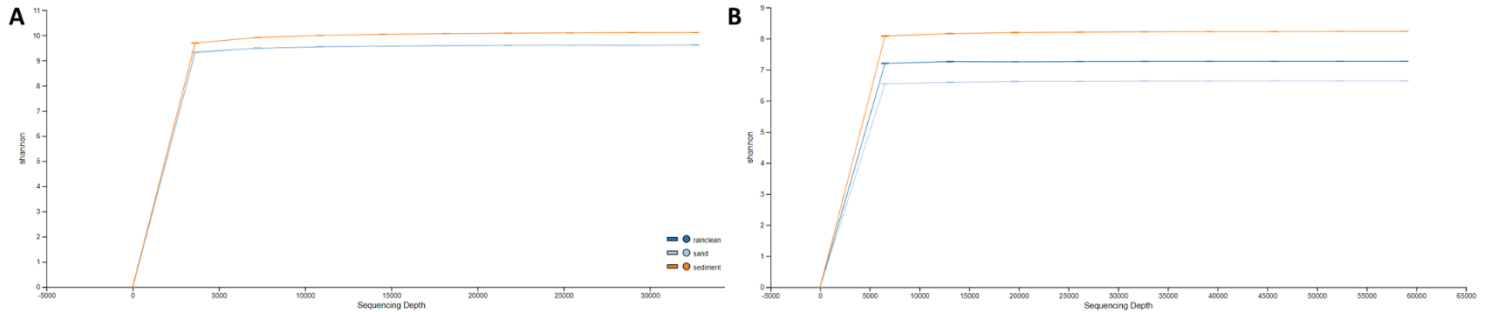


Figure 2.23 : Exemple de raréfaction des séquences obtenues, avec saturation de la diversité. A pour les bactéries ; B pour les champignons

La **diversité bêta** est la diversité **inter**-échantillon, permettant de savoir à quel point les communautés microbiennes sont différentes entre les échantillons. Pour cela, des distances entre les communautés sont calculées, plusieurs méthodes existent (*Jaccard, 1901 ; Bray et Curtis, 1957 ; Callahan et al., 2017 ; Anderson et al., 2011 ; Lozupone et Knight, 2005*)

-Distance Jaccard : évalue la ressemblance entre plusieurs échantillons en calculant le rapport entre les espèces communes aux deux sites et celles propres aux sites. Le calcul des distances se base uniquement sur la présence ou l'absence de taxons, pas sur leur abondances respectives (mesure qualitative).

-Distance Bray-Curtis : évalue la ressemblance entre plusieurs échantillons en prenant en compte la présence et l'absence des taxons mais également leurs abondances (mesure quantitative).

-Distance Unifrac pondérée : évalue la ressemblance entre plusieurs échantillons en prenant en compte l'abondance (comme Bray-Curtis) mais également les relations phylogénétiques des taxons (mesure quantitative)

-Distance Unifrac non pondérée : évalue la ressemblance entre plusieurs échantillons en prenant en compte la présence ou l'absence (comme Jaccard) mais également les relations phylogénétiques des taxons (mesure qualitative)

Les valeurs de ces distances sont toujours comprises entre 0 et 1, 0 lorsque les échantillons n'ont aucune espèce en commun, et 1 quand les taxons sont les mêmes entre les sites. Une analyse des coordonnées principales (PCoA) peut être réalisée en plus d'avoir les valeurs des distances, afin de représenter visuellement les différences de communautés entre les échantillons. La distance **Bray-Curtis** a été utilisée dans cette thèse pour exprimer la diversité bêta.

Enfin, pour évaluer les taxons **différentiellement abondants** par rapport aux autres échantillons (ceux qui différencient les échantillons par leur abondance), un algorithme d'analyse discriminante linéaire des tailles d'effet (LDA) (LEfSe ; *Segata et al., 2011*) a été réalisé avec l'analyse multiclasse un contre un. Un score LDA de 2 et un seuil alpha de 0,05 ont été utilisés comme seuils. Cela a uniquement été réalisé pour les essais de biodégradation puisque trois répétitions par échantillon étaient disponibles contrairement aux échantillons du suivi *in situ* (cf. IX -).

VII-4. Bilan des analyses réalisées sur les substrats

Pour finir cette partie, le Tableau 2.23 synthétise **toutes les analyses réalisées** lors des trois campagnes sur les différents substrats prélevés et précise les méthodes utilisées et les différents laboratoires ayant participé. Cette synthèse des analyses réalisées pour les essais de biodégradation sera fournie dans le paragraphe IX-4, une fois l'expérimentation présentée.

Tableau 2.23 : Synthèse de toutes les analyses réalisées sur les substrats prélevés sur site, et laboratoires associés.

| Type d'analyse | Analyse | Méthode/norme | Laboratoire | Campagne |
|--|--|--|---------------------|------------|
| Propriétés physico-chimiques | pH | NF ISO 10390 | | |
| | Carbonates | NF ISO 10693 | | |
| | Carbone organique | NF ISO 14235 | | |
| | Matière organique | NF ISO 14235 | | |
| | Azote total / Ammoniacal | NF ISO 13 878 / NF ISO 14256-2 | SGS | |
| | Rapport C/N | Calcul | | T0, T1, T2 |
| | CEC | NFX 31-130 | | |
| | Cations et anions majeurs | NFX 31-108 et NF ISO 11263 | | |
| | Granulométrie | NF ISO 13320-1 | | |
| | Masse volumique apparente | Séchage d'un volume connu d'échantillon humide non remanié | LEESU | |
| Capacité au champ | Saturation en eau (24h) puis ressuyage (48h) et pesée de l'eau retenue | | | |
| Propriétés microbiologiques et biochimiques | Abondance bactérienne et fongique | Nombre le Plus Probable (NPP) | | |
| | Activités enzymatiques cycle carbone | Hétérosidases (A-glucosidase et B-glucosidase) | | |
| | Activité enzymatique cycle azote | Uréase | LEESU | |
| | Activités enzymatiques cycle phosphore | Phosphatases acide et basique | | T0, T1, T2 |
| | Activités enzymatiques globales | Hydrolyse de la FDA (HFDA) et déshydrogénase | | |
| | Potentiel fonctionnel | Biolog EcoPlates | | |
| | Diversité génétique bactérienne | Extraction puis séquençage ADN 16S V3-V4 | LEESU puis Eurofins | |
| Diversité génétique fongique | Extraction puis séquençage ADN ITS2 | | | |
| Dosage des micropolluants | ETM : Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn | ISO 11466 | LAS-INRAE | T0, T1, T2 |
| | ETM : Cu, Pb, Zn cartographie sédiment | Analyseur à fluorescence X portatif | Cerema et LEESU | T1, T2 |
| | MPO émergents : AP, BPA, (PAE) | Extraction aux solvants puis UPLC-MSMS ou GC-MS | LEESU | T0, T1, T2 |
| | MPO : HAP et indices HC | NF ISO 18287 et NF EN 14039 | SGS | |

VIII - Analyses réalisées sur les végétaux

VIII-1. Mesure de la masse totale et analyse des micropolluants

D'une part, la masse totale des parties aériennes exportées lors du faucardage a été pesée afin de connaître la **biomasse végétale aérienne** présente.

Les parties aériennes de roseaux ensuite récupérées le 13 mars 2023 (hiver) ont été utilisées pour doser les MP exportés lors du faucardage. Après leur préparation, elles ont ensuite été envoyées au laboratoire sous-traitant SGS pour l'analyse des ETM et des HAP. Les **ETM** ont été extraits par une minéralisation au micro-onde, suivi de leur analyse en ICP-MS (protocole interne, MLR-ME418). Les **HAP** ont été extraits et analysés selon la norme NF EN 15527 adaptée au laboratoire. Les analyses de ETM et HAP ont été réalisées en triplicata pour chaque échantillon et permettent d'obtenir les teneurs en mg/kg. Les LQ et incertitudes des HAP sont les mêmes que celles décrites en VII-2.2). Celles des ETM sont fournies dans le Tableau 2.24.

Tableau 2.24 : Limites de quantification (LQ) et incertitudes de mesures associées à l'analyse des ETM. Les résultats sont en mg/kg.

| ETM | LQ | Incertainitude (+ ou -) |
|-----|-------|----------------------------|
| Cd | 0,025 | 15% |
| Cr | 0,25 | 15% |
| Cu | 0,25 | 10% |
| Ni | 0,25 | 15% |
| Pb | 0,008 | 10% |
| Zn | 0,05 | 15% |

Les MPO émergents **AP et BPA** ont été analysés au LEESU, selon le protocole décrit dans la partie VII-2.3, sans répétition en raison des coûts analytiques. Un blanc a été réalisé lors de la séquence, les résultats sont présentés dans le Tableau 2.25.

Tableau 2.25 : Teneurs en alkylphénols et bisphénol-A dans l'unique blanc d'extraction.

| Composé | Teneur blanc (µg/g) |
|---------|---------------------|
| BPA | 0,0029 |
| NP1EC | <LQ |
| OP | 0,0046 |
| OP1EO | 0,0025 |
| OP2EO | <LQ |
| 4-NP | 0,0149 |
| NP2EO | 0,0012 |
| NP1EO | 0,0151 |

VIII-2. Bilan des analyses réalisées sur les végétaux

Pour finir, le Tableau 2.26 résume toutes les analyses réalisées aux différentes campagnes sur les *P. australis* prélevés et précise les méthodes utilisées et les différents laboratoires ayant participé. La méthodologie des mesures réalisées est fournie en Annexe 2-5 pour celles qui ne sont pas présentées dans la suite de ce manuscrit.

Tableau 2.26 : Synthèse de toutes les mesures réalisées sur les végétaux prélevés sur site, et laboratoires associés. En rouge les échantillons n'ayant pas pu être caractérisés jusqu'au bout, donc non présentés dans la suite de ce manuscrit (la méthodologie des mesures est fournie en Annexe 2-5).

| Type d'analyse | Analyse | Méthode/norme | Laboratoire | Campagne |
|----------------|------------------------------|---|-------------|----------|
| Physiologie | Hauteur, diamètre, nombre | Comptage et relevé de paramètres physiologiques des parties aériennes | | T0, T1 |
| | Masses sèches | Pesée des masses sèches des différentes parties aériennes et souterraines | LEESU | T0, T1 |
| | Masses aériennes totales | Faucardage et pesée de la biomasse aérienne totale | | T2 |
| Dosage des MP | ETM : Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn | Protocole interne MLR-ME418 | SGS | |
| | MPO : 16 HAP prioritaires | NF EN 15527 adaptée | | T2 |
| | MPO émergents : AP, BPA | Extraction aux solvants puis UPLC-MSMS | LEESU | |

IX - Essais de biodégradation des micropolluants organiques

IX-1. Mise en place du dispositif expérimental

IX-1.1. Principe général

Afin d'évaluer le devenir des MPO émergents dans le FPR, cette étude visait à déterminer les **cinétiques de biodégradation** de deux **AP** (4-NP et 4-OP) et du **BPA**, présents dans les eaux de ruissellement traversant le FPR, et d'évaluer le rôle de la végétation, des substrats et des communautés microbiennes autochtones des substrats dans ce processus. Pour cela, un modèle du système in situ a été reproduit à échelle réduite au laboratoire en colonnes en 2022 au LEESU. Une étude préliminaire de faisabilité avait été réalisée en 2021 afin de préparer les essais finaux de 2022 (*Ranchoux, 2021*).

Le principe des essais est le suivant : des **colonnes** sont remplies des différents **substrats** des FPR (sable ou Rainclean ou sédiment séparément) et sont **plantées ou non** de *P. australis*. Après une période d'acclimatation, elles sont saturées en eau synthétique contaminée en 4-NP, 4-OP et BPA, puis ressuyées, et sont enfin **incubées** selon des paramètres météorologiques similaires à ceux du Bois de Boulogne. Des colonnes sont sacrifiées à chaque pas de temps défini afin de suivre les **teneurs des MPO** dans les substrats et l'évolution des **communautés microbiennes** (activité, diversité). Enfin, des **témoins** sont également mis en place ; des colonnes contenant des substrats stériles, et des colonnes recevant des eaux non contaminées, afin de déterminer la contribution abiotique et si les polluants impactent la structure des communautés.

À la suite de l'étude bibliographique réalisée sur la dégradation de ces composés, un temps d'incubation de 30 jours a été décidé car la majorité des polluants à étudier serait, théoriquement, dégradée. Puis, selon les recommandations du Groupe de travail de l'Union européenne **FOCUS** (FORum for the Co-ordination of pesticide fate models and their Use, *Boesten et al., 2014*) sur la réalisation et la modélisation d'essais de biodégradation, un minimum de **6 pas de temps** sont nécessaires, afin de correctement modéliser les cinétiques. Ainsi, les 6 pas de temps définis pour cette étude sont : **0, 1, 4, 7, 14 et 30 jours**. La dégradation étant généralement plus rapide en début de cinétique, plus de pas de temps sont définis dans la première moitié de l'incubation. Pour chaque substrat et modalité, **3 répétitions** sont réalisées à chaque pas de temps.

IX-1.2. Modalités d'exposition

Les deux substrats et le sédiment, regroupés ensemble et qui composent le FPR sont étudiés : **sable de surface, Rainclean et sédiment**. Les deux premiers sont étudiés avec une hauteur de 10 cm, comme présent au minimum *in situ*, tandis que le sédiment est étudié sur une hauteur de 5 cm, hauteur moyenne observé *in situ*. Les différents substrats sont étudiés selon plusieurs **modalités** (

Figure 2.24) :

- **Essai planté** : Il s'agit de colonnes remplies de 10 cm de substrat, dans lesquelles une « motte » de *P. australis* a été plantée et qui sont ensuite contaminées par une eau synthétique. Les mécanismes de dégradation ayant lieu dans ce système sont : dégradation abiotique + dégradation par les microorganismes + dégradation favorisée par les plantes (effet rhizosphérique). Cet essai vise donc à mettre en évidence **l'action des plantes et des microorganismes**. Le sédiment n'est pas étudié en condition plantée puisque les racines ne s'y développent pas.

- **Essai non planté** : Il s'agit des mêmes colonnes que l'essai planté, mais dans lesquelles aucun roseau n'est planté. Les mécanismes de dégradation sont donc : dégradation abiotique + dégradation par les microorganismes. Cet essai vise donc à mettre en évidence **l'action des microorganismes seuls**.

- **Témoin abiotique** : Ce témoin est composé d'un substrat préalablement stérilisé, contaminé par une eau synthétique stérile. Le mécanisme de dégradation ayant lieu dans ce système est la dégradation abiotique, donc **l'action du non vivant**.

-Témoin sans polluants : Ce deuxième témoin est composé d'un substrat comme pour les essais, mais une eau sans contaminant est utilisée, et aucun roseau n'est planté. Ainsi, aucun mécanisme de dégradation n'est recherché ici, il s'agit plutôt d'un **contrôle du système en absence de MPO** (évolution des communautés microbiennes). Il sert également à évaluer la **contamination initiale** en MPO avant leur ajout dans les autres modalités.

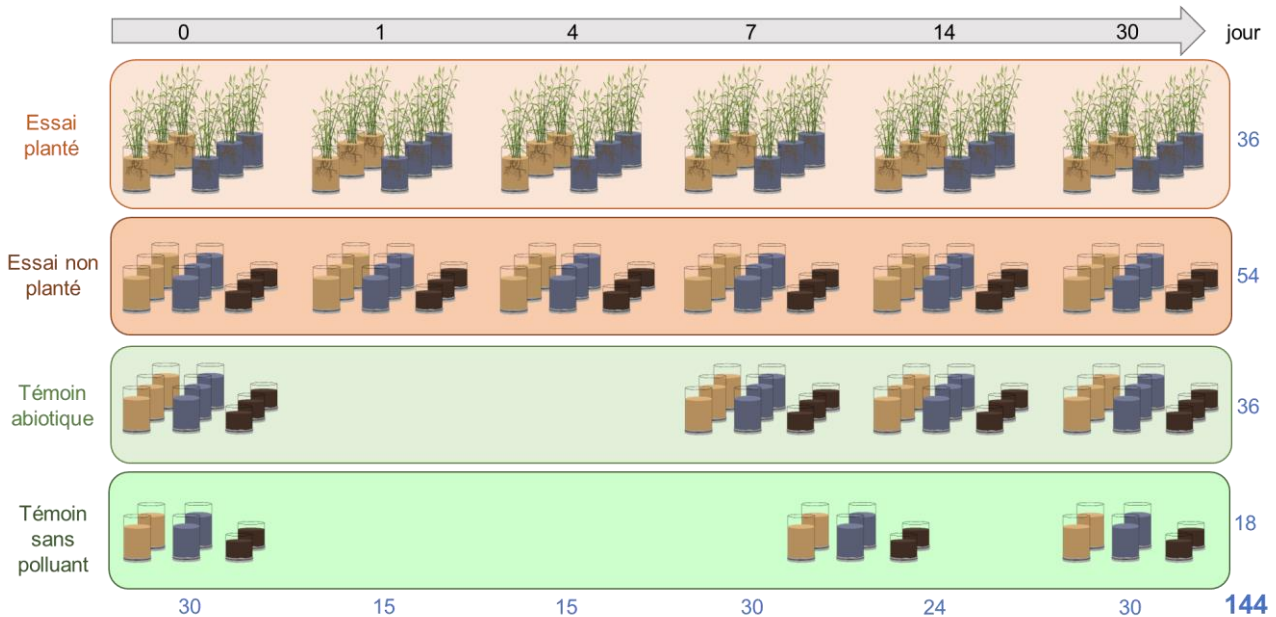


Figure 2.24 : Les différents substrats et modalités mis en place selon le temps. Le sable est représenté en orange, le Rainclean en bleu et le sédiment en marron. Le nombre de colonne par temps, par modalité et au total est indiqué en bleu.

Tous les essais ont été réalisés en **triplicata** à l'exception du témoin sans polluant qui n'a été fait qu'en **duplicata** (hypothèse de sa variabilité plus faible).

Les colonnes des essais plantés et non plantés ont été mises en place pour **tous les pas de temps définis**. Concernant les témoins abiotiques et sans polluants, les colonnes n'ont pas été mises en place pour le 1^{er} et 4^{ème} jour car peu d'évolution était supposée. Pour les colonnes de 7 et 14 jours du témoin sans polluant, la moitié de chaque colonne a été utilisée pour représenter ces deux temps. En effet, l'hypothèse d'une hétérogénéité plus faible dans ces témoins a été faite, permettant de limiter le nombre total de colonnes à étudier.

Le nombre total de colonnes préparées et analysées s'élève ainsi à **144** (

Figure 2.24).

IX-1.3. Composants du dispositif expérimental

IX-1.3.1. Colonnes

Les colonnes utilisées sont des cylindres en inox de **7,2 cm de diamètre** intérieur (7,6 cm extérieur) et **7 ou 12 cm de hauteur**, selon s'il s'agit du sédiment ou du sable/Rainclean respectivement. Un des deux côtés du cylindre est fermé avec un **grillage en inox** (maillage de 70 µm), maintenu par un collier à sertir en inox. Pour saturer séparément les colonnes, chacune est placée dans un **bécher** de 1L grillé. Enfin, afin de surélever les colonnes dans le bécher pour que les colonnes s'égouttent, un **tope** en aluminium grillé est utilisé. Le dispositif complet mis en place est présenté dans la Figure 2.25.

Afin d'éviter toute contamination en MPO, tout matériel utilisé lors des expérimentations a été soit grillé au four (550 °C pendant 2 h), soit nettoyé à l'acétone lorsque le matériel ne le permettait pas. L'utilisation d'inox ou verre a toujours été privilégiée à l'utilisation de matières plastiques.

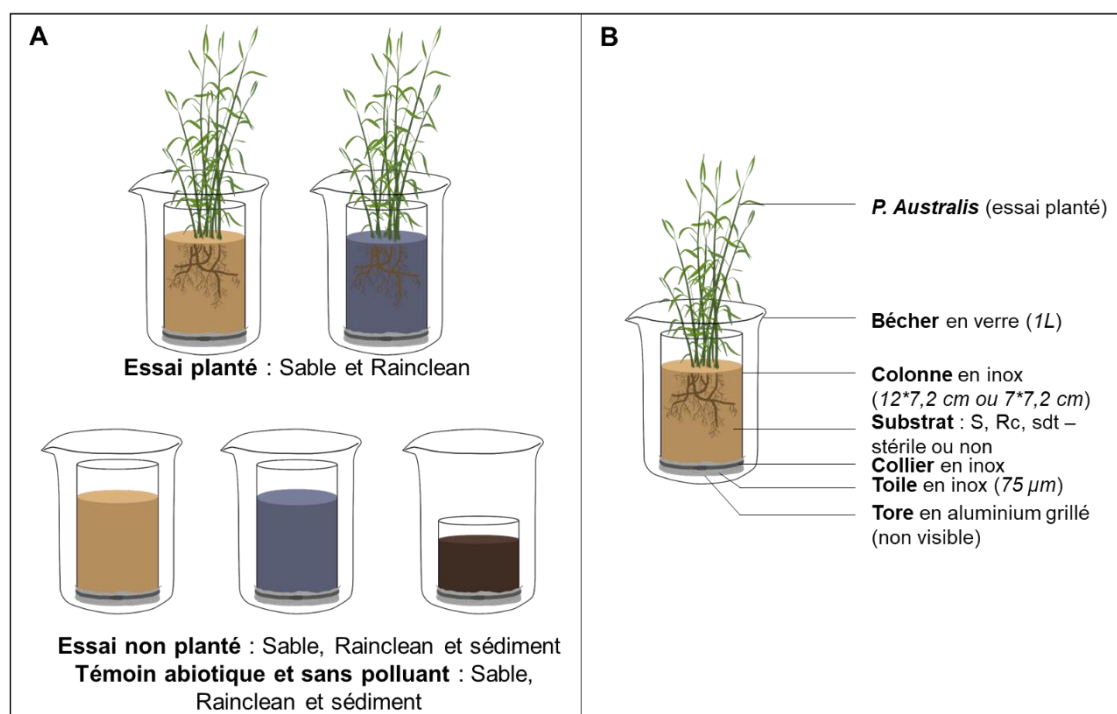


Figure 2.25 : Schémas du dispositif expérimental. A : des différentes colonnes selon les modalités. B : détails du dispositif.

IX-1.3.2. Substrats

Les substrats utilisés (sable, Rainclean et sédiment) sont ceux décrits dans le paragraphe VI-3. Pour les **modalités non stériles**, le substrat sec est placé dans les colonnes, et tapotées pendant le remplissage pour obtenir une colonne de substrat homogène, avec une densité proche de celle in situ.

Concernant la **modalité stérile**, une stérilisation doit d'abord être réalisée. Plusieurs méthodes existent dans la littérature : vapeur d'eau (autoclave), irradiation (gamma, micro-onde, ultraviolet), utilisation de solutions liquides (azide de sodium, chlorure de mercure (II), chloroforme, formaldéhyde, antibiotiques) (Razavi et Amir, 2007 ; Moura et al., 2018 ; Lees et al., 2018). La méthode par irradiation gamma est très efficace, mais la quantité d'échantillon à stériliser de plusieurs kilos était trop importante pour la retenir. Les méthodes en utilisant des solutions liquides circulant à travers l'échantillon sont performantes pour des faibles quantités d'échantillon à traiter, mais en plus des possibles interactions avec le sol, les volumes dans les colonnes étaient trop élevés pour avoir une distribution homogène de la solution sur toute la hauteur. Ainsi, il reste donc la solution de stérilisation par autoclavage. Cette méthode a été préférée en raison de son coût, de sa capacité à traiter des volumes d'échantillon élevés, et de sa performance, moins élevée que l'irradiation, mais satisfaisante. Des tests de stérilisation réalisés au laboratoire en amont des essais ont montré que peu de changement des propriétés physico-chimiques se produisaient sur les substrats (pH, carbone organique et CEC mesurés), et que la stérilisation fonctionnait. Aucune bactérie et aucune activité enzymatique totale n'était mesurée après la stérilisation (culture sur boîte de pétri, activité enzymatique totale et NPP mesurés). Cependant, après 7 jours conservés en système fermé et stérile, une colonisation bactérienne se reproduit dans les échantillons, montrant alors que la stérilisation totale est très difficile à obtenir. Nous avons choisi de maintenir cette méthode, qui provoquera, avec le temps, une faible activité basale des microorganismes se développant.

Le protocole final de stérilisation des substrats a donc été défini comme suit. Tout d'abord, les différents substrats sont légèrement humidifiés avec de l'eau distillée car la présence d'eau améliore la stérilisation par autoclave. Puis, les substrats sont répartis dans des petits sacs d'autoclave et sont aplatis pour avoir une hauteur de substrat d'environ 5cm (optimisation de la stérilisation par augmentation de la surface de contact). Un premier cycle d'autoclave (*Tuttnauer 5075 MLV*) est alors lancé pendant 30 minutes à 121 °C et 1,2 bar. Les sacs sont ensuite laissés au repos dans l'autoclave pendant 24 h (réactivation des microorganismes ayant survécu) puis ce cycle est répété deux fois encore (3 cycles

d'autoclave au total, avec 24 h de repos entre chaque) et après le 3^{ème} cycle, les échantillons sont récupérés et placés sous hotte PSM.

IX-1.3.3. *Phragmites australis*

Les *P. australis* utilisées dans cette étude ont été fournies par l'entreprise Santonine (Vienne, France). Des mottes de jeunes plants d'une 20^{aine} de cm de hauteur ont été récupérées dans des petits godets contenant du terreau au printemps 1 mois avant le début des essais. Les plantes ont été débarrassées de leur terre, lavées, rincées à l'eau distillée et séchées avec du papier absorbant de laboratoire (Figure 2.26), puis plantées directement dans le substrat des colonnes. Il y avait une motte (plusieurs tiges) par colonne. Seul des plantes dont le système racinaire était homogène ont été utilisées. La hauteur ainsi que l'enracinement initial ont été mesurés pour les plants retenus.

Un test préliminaire de croissance des roseaux dans les colonnes contenant du sable ou du Rainclean avait été réalisé en amont en triplicata pendant 3 semaines afin de vérifier la viabilité des *P. australis* en conditions expérimentales. L'entreprise nous avait fourni quelques mottes avant de récupérer celles pour les essais de biodégradation.



Figure 2.26 : Nettoyage du système racinaire des *P. australis*. A : système racinaire non nettoyé à gauche, et nettoyé à droite. B : les différents roseaux préparés pour les colonnes (Crédit : J. Roux 2022).

IX-1.3.4. Eau synthétique

Après une recherche bibliographique sur les types d'eau simulant les eaux de ruissellement urbain, plusieurs types ont été trouvés : eau de surface prélevée sur site, eau distillée dont la composition est ajustée par l'ajout de sels minéraux pour s'approcher de la composition d'eau de ruissellement ou l'utilisation d'une eau minérale commerciale. Pour des raisons de transport et de conservation il a été décidé d'adopter cette dernière solution. L'eau minérale **Volvic** a été sélectionnée en raison de sa composition proche de celle de ruissellement qui est la suivante : 12 mg/L Ca²⁺, 8 mg/L Mg²⁺, 12 mg/L Na⁺, 6 mg/L K⁺, 9 mg/L SO₄²⁻, 74 mg/L HCO₃⁻, 7.3 mg/L NO₃⁻, 15 mg/L Cl⁻, 32 mg/L SiO₂, pH 7 (Volvic, 2022).

L'eau achetée est soit gardée telle quelle (témoins sans polluants), soit **enrichie** en MPO d'intérêts (essais planté et non planté et témoin stérile) : **4-NP, 4-OP et BPA en mélange** pour le lancement de l'incubation. Les concentrations de MPO à utiliser ont été basées sur leurs LQ dans les solides (les MPO doivent encore être quantifiés à la fin de l'expérience), leurs teneurs maximales souhaitées dans les substrats après égouttage et leurs répartitions médianes dans les eaux de ruissellement en Ile de France, mentionnées par *Gasperi et al., (2022)*. Le 4-NP est le composé le plus retrouvé, suivi du BPA et du 4-OP. Ces considérations ont abouti à des concentrations à utiliser de **3,5, 2,57 et 1 mg/L pour le 4-NP, BPA et 4-OP respectivement** (Tableau 2.27). Ces concentrations sont bien plus élevées que la réalité mais permettent de respecter les différentes conditions souhaitées.

Pour obtenir ces concentrations, une **solution mère de chaque polluant à 2 g/L** est tout d'abord réalisée dans du méthanol (car les molécules utilisées sont peu solubles dans l'eau), et conservée au frais (4°C). Afin d'obtenir les concentrations souhaitées d'eau préparée : 8,44 mL de 4-NP, 2,46 mL de 4-OP et 6,35 mL de BPA des solutions mère sont ajoutés pour 5 L et les bouteilles sont bien homogénéisées avant de les utiliser.

Enfin, un test de la saturation des colonnes avec ces concentrations a été réalisé en amont, afin de vérifier les teneurs initiales obtenues dans les colonnes des trois substrats.

Tableau 2.27 : Choix des concentrations en 4-NP, 4-OP et BPA à utiliser pour contaminer les colonnes. (1) Gasperi et al., 2022 : concentration médiane des différents MPO dans les eaux de ruissellement d'Ile -de-France.

| Polluant | Concentration médiane (ng/L) (1) | Concentration eau contaminée (mg/L) | Type d'eau |
|----------|----------------------------------|-------------------------------------|------------|
| 4-NP | 699 | 3,5 | |
| 4-OP | 197 | 1 | Volvic |
| BPA | 513 | 2,57 | |

IX-1.4. Montage des colonnes

Les colonnes sont donc grillées et séchées, puis montées. 10 cm de sable ou Rainclean ou 5 cm de sédiment sont placés, une motte de roseaux est placée au centre de la colonne pour la modalité plantée. Les colonnes remplies sont ensuite mises dans les béciers grillés de 1 L, et un tore en aluminium grillé est placé entre la colonne et le bécier, pour favoriser le drainage de l'eau au fond du bécier (Figure 2.27).

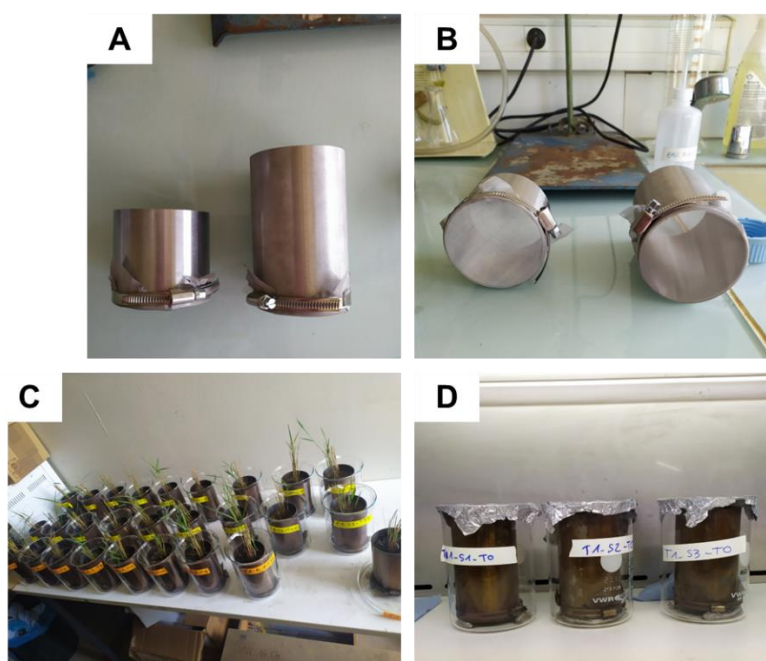


Figure 2.27 : Montage des colonnes. A et B : Les colonnes utilisées. C : Système entier. D : Système entier des témoins abiotiques, sous PSM (Crédit : J. Roux 2022).

Deux séries d'incubations ont été lancées, en raison de la place disponible dans la chambre climatique de culture (Tableau 2.28).

Tableau 2.28 : Dates de début de et fin des deux séries d'incubation.

| | 1ère série | 2ème série |
|---------------------------------|--------------------------------|--|
| Modalités étudiées | Essai planté, témoin abiotique | Essai non planté, témoin non contaminé |
| Date de la préincubation | 25 avril au 9 mai 2022 | 30 mai au 13 juin 2022 |
| Date de l'incubation | 9 mai au 8 juin 2022 | 13 juin au 13 juillet 2022 |

IX-2. Incubation des colonnes

IX-2.1. Préincubation

Une fois toutes les colonnes mises en place, la préincubation peut débuter afin d'acclimater les végétaux et les communautés microbiennes aux nouvelles conditions de l'étude. Les colonnes sont arrosées abondamment avec l'eau Volvic non contaminée pour les humidifier, puis laissées à égoutter pendant 10 minutes. La masse humide des colonnes est alors notée.

Les colonnes sont ensuite placées dans une **chambre climatique de culture** (KBWF 720, Binder) dans un ordre aléatoire pour y subir une préincubation pendant **15 jours**. Dans la chambre, des paramètres proches de ceux retrouvés dans le Bois de Boulogne en été ont été utilisés :

- Luminosité : alternance lumière/obscurité selon un cycle **16h lumière/8h obscurité** (caractéristique des tubes de lumière de jour : 13000 Lux, 38 W/m²),
- Température : **20°C** en journée et **15 °C** la nuit,
- Humidité : atmosphère à **60 %** d'humidité.

Puis, tous les 2 jours, les colonnes sont pesées, et de l'eau Volvic non contaminée est ajoutée afin de compenser les pertes liées à l'évapotranspiration et de garder une masse constante (*Sauvâtre et Schröder, 2015*) (variation de la masse totale liée à la croissance de végétaux négligeable par rapport au système entier). De plus, chaque lundi, la hauteur des tiges est mesurée.

Afin de maximiser la stérilité au cours de l'incubation, les témoins abiotiques ne subissent pas de préincubation.

IX-2.2. Incubation

A la fin de la préincubation, les colonnes sont prêtes à être contaminées en BPA, 4-NP et 4-OP et d'être incubées afin de suivre leur dégradation pendant 30 jours. Les témoins stériles sont préparés le matin même du lancement de l'incubation. Le montage des colonnes se fait sous PSM, et les colonnes sont ensuite recouvertes d'aluminium stérile pour fermer le système.

Pour préparer les colonnes contaminées, l'eau **Volvic enrichie en MPO** est versée dans chaque béccher pour **saturer** par le bas les colonnes (meilleure saturation que par le haut) jusqu'à ce que le niveau de l'eau soit au-dessus des substrats (Figure 2.28A à C). Puis, le système est laissé immergé pendant 2 heures. Ensuite, 150 mL (sable et Rainclean) et 75 mL (sédiment) de l'eau qui s'est infiltrée dans les colonnes sont prélevés et mis à la surface des colonnes, afin d'immerger par le haut également en raison des substrats très adsorbants utilisés (Rainclean et sédiment), qui impliquaient une forte rétention des MPO dès leur pénétration par le bas (essais préliminaires réalisées). Les colonnes sont laissées à nouveaux pendant 2 heures, afin d'avoir au total **4 heures de saturation** des substrats (temps de séjour de l'eau dans les FPR *in situ*). Après ces 4 heures, les colonnes sont mises à égoutter pendant 1 heure pour évacuer l'eau gravitaire (des tests préliminaires ont mis en évidence que la majorité de l'eau gravitaire est évacuée après 1h de ressuyage, Annexe 2-17). Enfin, après ressuyage, les colonnes sont pesées pour connaître la **masse humide** de chaque système. Les colonnes correspondant au pas de temps **initial** (0 jour) sont prélevées, tandis que les autres sont placées dans la chambre climatique, avec les **mêmes paramètres** d'incubation que lors de la préincubation (Figure 2.28D et E). Finalement, à **chaque pas de temps défini**, les trois répétitions de colonne d'une même modalité et d'un même substrat sont **prélevées** pour analyses :

- 0, 1, 4, 7, 14 et 30 jours pour les essais plantés et non plantés,
- 0, 7, 14 et 30 jours pour les témoins abiotiques et sans polluant.

Comme lors de la préincubation, les colonnes sont pesées tous les deux jours, et la masse perdue est **compensée** en rajoutant de l'eau Volvic non contaminée. La hauteur des tiges est suivie une fois par semaine, et la profondeur d'enracinement est mesurée à chaque fois que des colonnes sont prélevées et sacrifiées. Le Tableau 2.29 récapitule finalement les informations de ces essais de biodégradation.

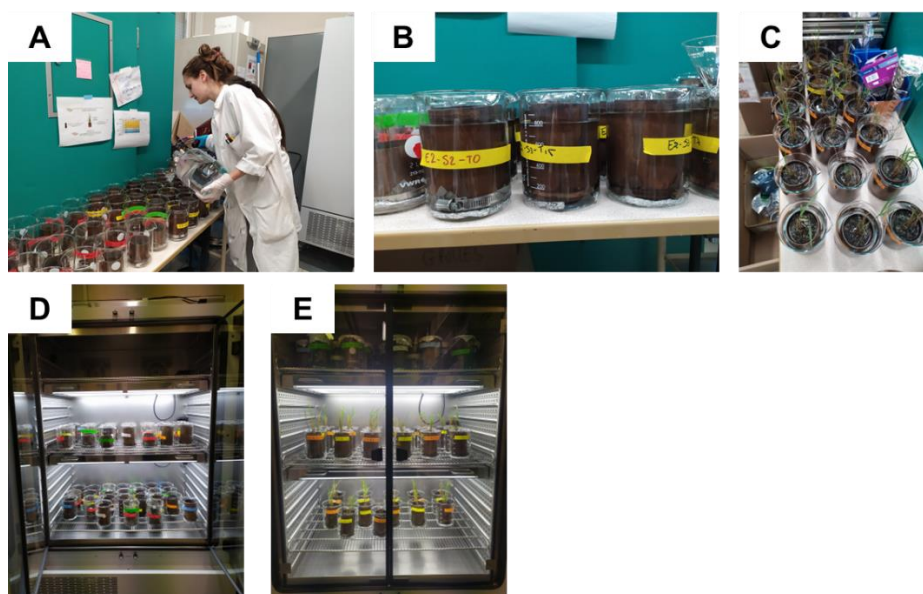


Figure 2.28 : Lancement de l'incubation des colonnes : contamination et incubation. A : ajout de l'eau dans les colonnes. B : colonnes non plantées saturées. C : colonnes plantées saturées. D : incubation des colonnes non plantées. E : incubation des colonnes plantées (Crédit : J. Roux 2022).

Tableau 2.29 : Résumé des essais de biodégradation. + : présence. - : absence.

| Composant | Essai Planté | Essai non planté | Témoin abiotique | Témoin sans polluant |
|---------------------|--------------------|--------------------|------------------|----------------------|
| Sable | + | + | + | + |
| Rainclean | + | + | + | + |
| Sédiment | - | + | + | + |
| <i>P. australis</i> | + | - | - | - |
| Stérilisation | - | - | + | - |
| Eau | + | + | + | - |
| Prélèvements (j) | 0, 1, 4, 7, 14, 30 | 0, 1, 4, 7, 14, 30 | 0, 7, 14, 30 | 0, 7, 14, 30 |

IX-3. Prélèvement et préparation des échantillons

A chaque pas de temps donné, 3 colonnes de chaque substrat et modalité sont prélevées pour être analysées. Tout d'abord, les colonnes prélevées sont pesées, elles sont ensuite démontées, et les substrats sont placés dans des bacs en inox, préalablement lavés à l'acétone. Si une **plante** est présente, elle est prélevée et secouée afin de récupérer tout le substrat adhérent aux racines, qui est ensuite ajouté au reste du substrat (Figure 2.29A et B). Une dilution de l'effet rhizosphérique est donc attendue, mais pour pouvoir comparer les teneurs en MPO dans le temps, l'ensemble du substrat doit être considéré. Les témoins **stériles**, sont traités de la même façon, mais sous une PSM.

Une fois les substrats enlevés des colonnes, ils sont **homogénéisés** dans un bac en inox à l'aide de cuillères en inox lavées à l'acétone entre chaque échantillon (Figure 2.29C). Puis, chaque échantillon de substrat homogène est réparti dans différents contenants correspondant à une préparation et une analyse différente :

- **Analyses microbiologiques et physico-chimiques** : les échantillons sont conservés dans des sachets plastiques achetés stériles (PP, 1 L). Ils sont placés au frais (4 °C) jusqu'à analyse, où ils sont analysés tels quels (pas de tamisage ou de séchage) dans la semaine suivant le prélèvement.

- **Analyses de biologie moléculaire** : les échantillons sont conservés dans des tubes Falcon plastique de 15 mL. Ils sont placés au congélateur (-20 °C) jusqu'à analyse (aucune préparation des échantillons).

- **Analyses de micropolluants organiques** : les échantillons sont conservés dans des flacons en verre ambré grillés de 100 ml. Ils sont placés au congélateur jusqu'à préparation : lyophilisation, broyage en poudre et conservation en dessiccateur jusqu'à analyse (même préparation que dans le paragraphe VI-1.4).

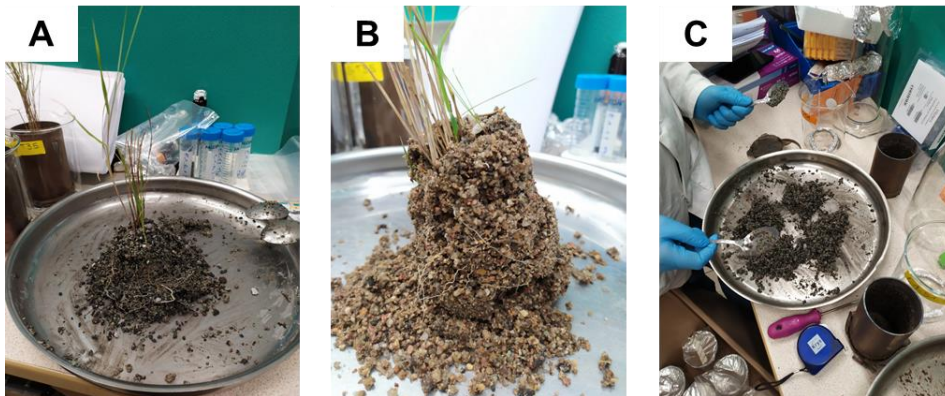


Figure 2.29 : Destruction des colonnes. A : *P. australis* développé dans le Rc. B : *P. australis* développé dans le sable. C : Homogénéisation des substrats (Crédit : J. Roux 2022).

En plus des échantillons de substrats, l'eau Volvic contenant les MPO est **prélevée avant et après** l'immersion des différentes colonnes, afin d'y doser les concentrations en MPO. 2 mL des 3 répétitions sont prélevés et rassemblés ensemble pour former un échantillon composite de l'eau de sortie de colonne d'un même substrat et modalité. 10 mL de l'eau avant son passage dans les colonnes sont également prélevés. Ils sont conservés dans des flacons en verre ambré grillés, au congélateur jusqu'à analyse.

Finalement, concernant les **roseaux**, leur masse humide et sèche, leur hauteur de tiges et leur profondeur d'enracinement sont évalués.

IX-4. Analyses réalisées sur les substrats

Les analyses effectuées sur les différentes modalités sont décrites dans le Tableau 2.30. Elles ont été réalisées selon les mêmes protocoles décrits pour le suivi du filtre, ou bien selon des protocoles modifiés, décrits dans le Chapitre VII - . Les trois répétitions de chaque substrat et modalités étaient analysées pour toutes les analyses suivantes.

Quelques mesures **physico-chimiques** ont été réalisées. Le pH et le poids sec ont été suivis tout le long, la capacité au champ a été réalisée uniquement avant le lancement des cinétiques et le carbone organique total a été mesuré aux temps initial et final. Ces analyses n'ont pas été réalisées par SGS, les protocoles sont définis dans le paragraphe VII-1. Les **MPO** ont été dosés à chaque pas de temps pour les essais, après 0, 7, 14 et 30 jours pour les témoins stériles et uniquement au temps initial pour le témoin sans MPO. Les phtalates n'étant pas étudiés, le protocole était différent de celui du suivi du filtre. Des échantillons liquides ont également été récupérés, l'analyse diffère également de celle en milieu solide. Ces deux protocoles sont décrits dans le paragraphe VII-2.3.7. Les analyses **microbiologiques et biochimiques** ont été réalisées à 0, 7, 14 et 30 jours de façon générale, et la diversité génétique bactérienne uniquement aux temps initial et final. Les protocoles étaient les mêmes que ceux décrits pour le suivi du filtre, dans le paragraphe VII-3.

Tableau 2.30 : Synthèse des différentes analyses réalisées sur les substrats et modalités. Le type d'analyse, les modalités et pas de temps ciblés et le laboratoire ayant réalisé les analyses sont indiqués. Lorsque le protocole était différent de celui décrit pour le suivi du filtre, il est écrit « Oui » et le protocole modifié est présenté dans les différents paragraphes du Chapitre VII - .

| Analyse | Modalité | Pas de temps (j) | Variante du protocole | Laboratoire | |
|---|---|---|--|-------------|----------|
| Physico-chimiques (cf VII-1) | pH | -Essais planté et non planté, témoins stérile et sans MPO | -0, 4, 7, 14, 30 | Oui | LEESU |
| | Poids sec | -Essais planté et non planté, témoins stérile et sans MPO | -0, 1, 4, 7, 14, 30 | Non | LEESU |
| | Capacité au champ | -Sable, Rainclean, sédiment | -Avant incubation | Oui | LEESU |
| | Carbone organique total | -Essais planté et non planté, témoins stérile et sans MPO | -0, 30 | Oui | LEESU |
| Micropolluants organiques (cf. VII-2.3.7) | 4-NP, 4-OP, BPA | -Essais planté et non planté -Témoin stérile -Témoin sans MP -Eau avant/ après passage dans les colonnes | -0, 1, 4, 7, 14, 30 -0, 7, 14, 30 -0 -0 | Oui | LEESU |
| Microbiologiques et biochimiques (cf. VII-3) | Abondance (NPP) | -Essais planté et non planté -Témoins stérile et sans MPO | -0, 4, 7, 14, 30 -0, 7, 14, 30 | Non | LEESU |
| | Activité enzymatique totale (HFDA) | -Essais planté et non planté, témoin sans MPO | -0, 7, 14, 30 | Non | LEESU |
| | Potentiel fonctionnel (plaques BIOLOG) | -Essais planté et non planté, témoin sans MPO | -0, 7, 14, 30 | Non | LEESU |
| | Diversité génétique bactérienne (16S) | -Essais planté et non planté, témoin sans MPO | -0, 30 | Non | Eurofins |

IX-5. Récapitulatif de la méthodologie des essais de biodégradation

Pour finir, la Figure 2.30 résume les essais de biodégradation réalisés au laboratoire.

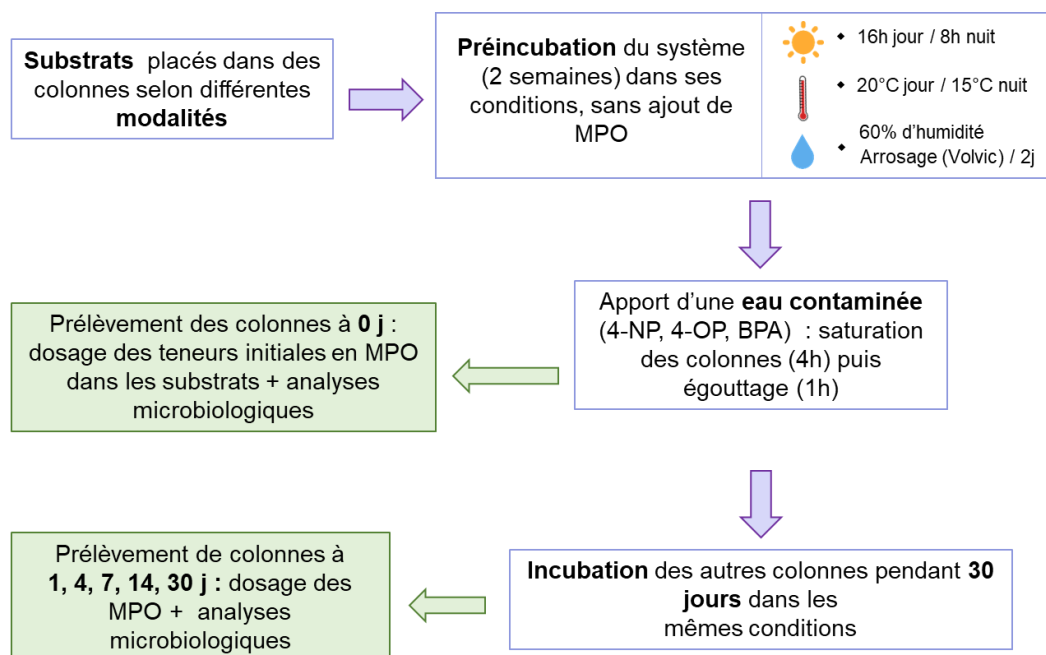


Figure 2.30 : Récapitulatif de la méthodologie mise en place pour les essais de biodégradation.

IX-6. Modélisation des cinétiques de dégradation

IX-6.1. Préparation des données

La modélisation de la cinétique de biodégradation des MPO a été réalisée avec le package **Gmkin** (Ranke, 2021) du logiciel R (R Core Team, version 4.2.2, 2022).

Tout d'abord, les données ont été converties et normalisées en **pourcentage** de MPO (rapporté aux teneurs initiales, donc 100% du composé au temps initial), et la modélisation a été basée sur les six pas de temps et trois répétitions par temps.

IX-6.2. Modélisation des données

Puis, pour étudier la cinétique de dégradation des MPO, le document d'orientation du groupe de travail **FOCUS** de l'Union européenne (Boesten et al., 2014) a été suivi pour sélectionner les modèles qui s'adaptent le mieux aux données de chaque cinétique.

Quatre modèles de cinétique ont été testés :

- **Single First-Order** (SFO, *éq. (5)*). La SFO est une équation exponentielle simple qui suppose que le nombre de molécules composées est faible par rapport au nombre de micro-organismes de dégradation et de leurs enzymes.

$$C_t = C_0 * e^{-k*t} \quad (5)$$

- **First-order multi-compartment** (FOMC, *éq. (6)*). Le modèle FOMC est un modèle biphasique qui suppose que le sol est un milieu hétérogène et le divise ensuite en un petit nombre de sous-compartiments, chacun ayant une constante de vitesse de dégradation différente (Boesten et al., 2014).

$$C_t = \frac{C_0}{\left(\frac{t}{\beta} + 1\right)^\alpha} \quad (6)$$

- **Hockey-Stick** (HS, *éq. (7) et (8)*) et **Modified Hockey-Stick** (MHS, *éq. (7) et (8)*). Le modèle HS est également un modèle biphasique qui suppose deux courbes séquentielles du premier ordre avec un point de rupture à un certain moment. Pour le MHS, il s'agit du même modèle que HS mais aucune dégradation ne se produit avant le point de rupture en raison d'une phase de latence (Boesten et al., 2014).

$$\text{Première équation du modèle HS et MHS : } C_t = C_0 * e^{-k_1*t} \quad \text{pour } t \leq tb \quad (7)$$

$$\text{Deuxième équation du modèle HS et MHS : } C_t = C_0 * e^{-k_1*tb} * e^{-k_2*(t-tb)} \quad \text{pour } t > tb \quad (8)$$

Le C_t est la teneur en MPO (%) au pas de temps t (jour), C_0 est la teneur initiale en MPO (%), k , k_1 et k_2 sont les constantes de vitesse de dégradation (jour⁻¹), α est un paramètre de forme déterminé par le coefficient de variation des valeurs de k (aucune unité), β est un paramètre de localisation (aucune unité) et tb est le temps (jour) où la constante de vitesse change (point de rupture). Pour le modèle MHS, $k_1 = 0$ (pas de dégradation, c'est à dire présence d'une phase de latence).

Chaque cinétique a été modélisée selon ces quatre modèles. Le C_0 a toujours été fixé à 100% et les autres paramètres ont ensuite été optimisés via Gmkin. Un exemple des différents modèles est donné sur la Figure 2.31.

Puis, pour sélectionner le modèle qui décrivait le mieux les données, les critères proposés par Boesten et al. (2014) ont été utilisés :

- Évaluation **visuelle** de l'ajustement. Il s'agit d'observer si les valeurs mesurées sont superposables au modèle. Sur la Figure 2.31A, il est visible que le modèle SFO n'est pas bien adapté au jeu de données.
- Calcul de l'erreur χ^2 du modèle. Il s'agit de l'écart entre les données calculées et observées par rapport à l'incertitude des mesures, il décrit l'erreur de mesure (*éq. (9) et (10)*). Le modèle ayant

l'erreur la plus faible et une valeur inférieure à 15 % est alors retenu. Sur les Figure 2.31B et C, les modèles FOMC et HS représentent bien les données, cependant, l'erreur associée au modèle FOMC (9,5 %) est plus faible que celle associée au modèle HS (20,7 %) donc il sera préféré.

$$\chi^2 = \sum \frac{(C-O)^2}{\left(\frac{err}{100} * \bar{O}\right)^2} \quad (9)$$

Où C est la valeur calculée par Gmkin, O est la valeur mesurée, \bar{O} est la moyenne de toutes les valeurs observées et err est l'erreur du modèle (%).

Cependant, « err » est inconnu, ce qui rend le calcul de χ^2 impossible. A la place, le minimum de « err » est calculé, et si χ^2 calculé $\leq \chi^2$ tabulé à un niveau de confiance de 95 %, alors le test est réussi. Dans ce cas, l'erreur minimale à laquelle le test est réussi est celle qui correspond à χ^2 tabulé, et est calculé par l'équation (ég. (10)).

$$err = 100 \sqrt{\frac{1}{\chi^2_{tabulé}} * \sum \frac{(C-O)^2}{\bar{O}^2}} \quad (10)$$

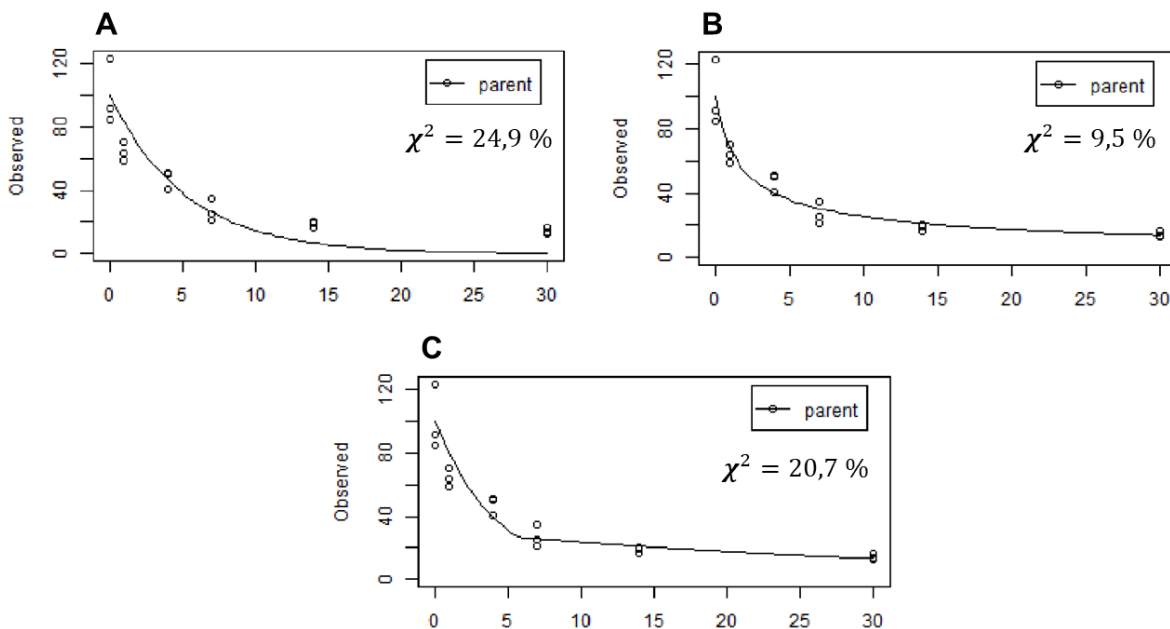


Figure 2.31 : Exemple de modélisation de la cinétique du BPA dans le Rainclean de l'essai non planté avec les 3 modèles sélectionnés. A : modèle SFO ; B : modèle FOMC ; C : modèle HS. Les données n'ayant pas montré de phase de latence, le modèle MHS n'est pas présenté. L'erreur associée au modèle est indiquée sur la figure.

IX-6.3. Optimisation des modèles

Une fois le modèle appliqué aux jeux de données, les paramètres modélisés sont obtenus. Ensuite, arrive l'étape **d'optimisation de l'ajustement** du modèle sélectionné. Pour obtenir des modèles optimisés, une détermination des **valeurs aberrantes** de chaque jeu de données a été entreprise. Elles ont été identifiées selon une méthode graphique. En effet, Gmkin fourni en sortie la valeur de la constante de vitesse modélisée et optimisée, k par exemple, mais également les intervalles de confiance à 95 % de ces constantes, kmin et kmax. La cinétique modélisée peut alors être tracée selon les valeurs minimum et maximum des constantes de vitesse (on a alors un intervalle de confiance du modèle).

En superposant les valeurs mesurées, on peut alors voir si elles se situent **en dehors ou en dedans** des courbes min et max définies par les intervalles de confiance des constantes (Figure 2.32). Les valeurs en dehors de cet intervalle de confiance sont alors considérées comme aberrantes et sont

écartées du jeu de données. L'objectif était d'améliorer la précision du modèle en supprimant les valeurs aberrantes.

Le modèle est alors à nouveau lancé sans ces valeurs aberrantes et les paramètres du modèle optimisé sont alors récupérés. Dans l'exemple donné (Figure 2.32), l'erreur du modèle était initialement de 28,1 %, et après retrait des valeurs aberrantes, l'erreur était maintenant de 14,3 %.

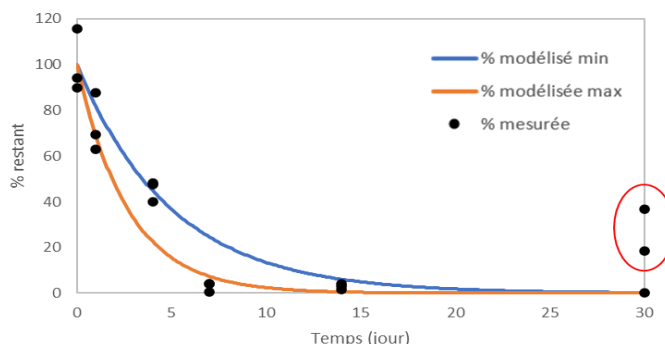


Figure 2.32 : Exemple de mise en évidence des valeurs aberrantes dans la cinétique du 4-NP dans le Rainclean planté. Dans cet exemple, les valeurs mesurées entourées en rouge sont considérées comme aberrantes car éloignées des cinétiques minimum et maximum modélisées (SFO).

IX-6.4. Calculs des temps de demi-vie des micropolluants organiques

Finalement, le modèle sélectionné et optimisé obtenu, les constantes de dégradation sont obtenues (k , α , β). Le **temps de demi-vie** (DT_{50}), qui correspond au temps nécessaire pour que la teneur diminue de moitié par rapport à la valeur initiale, a pu alors être calculé selon différentes équations (éq.(11), (12), (13) et (14)) définies pour chaque modèle.

$$SFO : DT_{50} = \frac{\ln 2}{k} \text{ and } DT_{90} = \frac{\ln 10}{k} \quad (11)$$

$$FOMC : DT_{50} = \beta \left(2^{\left(\frac{1}{\alpha}\right)} - 1 \right) \text{ and } DT_{90} = \beta \left(10^{\left(\frac{1}{\alpha}\right)} - 1 \right) \quad (12)$$

$$HS \text{ et } MHS \text{ si } DT_{50} \leq t_b : DT_x = \frac{\ln \frac{100}{100-x}}{k_1} \quad \text{if } DT_x \leq t_b \quad (13)$$

$$HS \text{ et } MHS \text{ si } DT_{50} > t_b : DT_x = t_b + \frac{(\ln \frac{100}{100-x} - k_1 t_b)}{k_2} \quad \text{if } DT_x > t_b \quad (14)$$

Pour tenir compte de la variabilité des résultats, les **intervalles de confiance du DT_{50}** ont été calculés à partir des intervalles de confiance à 95 % donnés pour les constantes des cinétiques (k , α , β).

Les **pourcentages de dégradation totaux** (à la fin des 30 jours d'incubation) peuvent également être calculés pour chaque cinétique (éq.(15)).

$$\% \text{ dégradé} = \% \text{ initial} - \% \text{ final} \quad (15)$$

Avec % dégradé le pourcentage total de MPO dégradé, % initial le pourcentage initial de MPO dans l'échantillon et % final le pourcentage final de MPO dans l'échantillon.

X - Traitements finaux des données

X-1. Accumulation de sédiment et de micropolluants dans le filtre planté de roseaux

X-1.1. Cartographie du sédiment

Les **teneurs en ETM** (Zn, Pb et Cu) ainsi que l'**épaisseur** de la couche de sédiment ont donc été mesurées sur les échantillons uniques de sédiment prélevés aux campagnes T1 et T2. Afin de pouvoir représenter ces résultats sous forme d'une carte, le logiciel QGIS (*QGIS Association, version 3.26.3*) a été utilisé.

Les prélèvements de sédiment ont été géolocalisés in situ (*Trimble Geo 7x*) permettant de les représenter sur une carte. En associant ensuite à chaque point des teneurs en ETM et une épaisseur, il a alors été possible de réaliser des interpolations spatiales afin d'obtenir une carte avec courbes de niveau. L'interpolation spatiale est le processus d'utilisation de points dont les valeurs sont connues pour estimer des valeurs à d'autres points intermédiaires. L'interpolation utilisée est une **interpolation par pondération par l'inverse de la distance** (Inverse Distance Weighting). Le principe est que les points d'échantillons connus sont pondérés pendant l'interpolation de telle sorte que l'influence d'un point par rapport à un autre décline à mesure que la distance du point inconnu augmente. Par exemple, sur la Figure 2.33, le point le plus éloigné, en haut à gauche aura moins d'influence dans l'interpolation que celui en dessous, plus proche du point à interpolier.

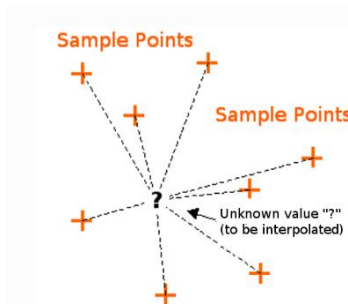


Figure 2.33 : Principe de l'interpolation par pondération par l'inverse de la distance basée sur la distance pondérée d'un jeu d'échantillons (issu de Mitas et Mitasova, 1999)

La pondération est réalisée selon un **coefficient de pondération** défini, qui contrôle comment l'influence de la pondération diminue avec la distance. Plus le coefficient est élevé, moins les points auront d'effet s'ils sont loin du point inconnu pendant l'interpolation. Dans notre cas, un coefficient de pondération de **3** a été utilisé (*Kravchenko et Bullock, 1999*) à la base de la répartition des points de prélèvement dans l'espace.

Une fois l'interpolation obtenue, les niveaux de couleur correspondant aux teneurs ou épaisseurs sont défini de façon **discrète** afin de permettre une lecture par classe. Pour les cartes d'épaisseur, les classes d'épaisseur sont définies tous les 1 cm (de <1 à 10) jusqu'à 10 cm puis de 10 à 15 cm (très peu de valeur dans ce cas de figure). Pour les cartes de teneurs, les classes sont définies selon l'équation de Sturges (*Sturges, 1926*) (éq. (16)).

$$\text{Nombre de classes} = 1 + 3.322 \log (n) \quad (16)$$

avec n le nombre de mesure. Cela donne alors 7 classes de teneurs en ETM. Les mêmes échelles sont gardées entre les deux campagnes afin de pouvoir les comparer par la suite.

La cartographie du sédiment permet également de connaître l'**épaisseur moyenne** de sédiment dans chaque FPR et pour chaque campagne, qui sera nécessaire pour obtenir les masses de MP dans le sédiment (X-1.2.1). En effet, le **volume total** de sédiment devra être connu.

Pour cela, les surfaces ainsi que les épaisseurs moyennes de chaque classe d'épaisseur définie ont été récupérées sur QGIS. En multipliant les épaisseurs par les surfaces associées, le volume de chaque classe d'épaisseur est alors obtenu (m³) et la somme de tous ces volumes donne le volume total de sédiment dans chaque filtre.

X-1.2. Bilan de l'accumulation des micropolluants dans les FPR au cours du temps : substrats et roseaux

X-1.2.1. Bilan dans les substrats

L'objectif est de mesurer le **stock** et l'**accumulation** des micropolluants (MP) organiques et métalliques ayant eu dans le temps et l'espace dans les deux FPR. Pour rappel, lors des trois campagnes de prélèvement (T0, T1 et T2), les échantillons composites de substrats récupérés sont représentatifs d'une campagne, d'un filtre, d'une zone, et d'une couche de substrat (profondeur). Dans le filtre FS, les contraintes budgétaires ont conduit à moins de prélèvements que dans le filtre FR (sable de surface de 0 à 10 cm et sable profond de 0 à 40 cm dans FR). Le sable profond des deux FPR ne correspond donc pas à la même profondeur. Cependant, pour évaluer le rôle du Rc, il faut pouvoir le comparer avec un substrat à une même profondeur dans le filtre FS. Ainsi, pour le bilan de l'accumulation uniquement, la décision suivante a été prise : le sable profond du filtre FS a été subdivisé en un sable moyen (Sm) correspondant à 20 cm de profondeur comme le Rc et un sable profond (Sp) correspondant aux 10 derniers cm de profondeur. Il y a donc un léger risque de sous-estimation des valeurs dans Sm et de surestimation de Sp puisqu'il s'agit d'un échantillon composite sur 30 cm.

Les données disponibles sont les teneurs en MP, la masse volumique des substrats, la surface de chaque zone et la profondeur de chaque couche de substrat. Ainsi, dans un premier temps, les teneurs de chaque échantillon sont ramenées en **masse** (m, en mg) de polluant pour chaque échantillon grâce à l'équation (équ. (17)).

$$m_{MP} = T_{MP} * \rho_{couche} * S_{couche} * h_{couche} \quad (17)$$

Avec m_{MP} la masse de MP dans un échantillon de substrat (mg), T_{MP} la teneur en MP (mg/kg), ρ_{couche} la masse volumique du substrat considéré (kg/m³), S_{couche} la surface de la couche considérée (surface totale du FPR ou surface d'une zone d'un filtre, en m²) et h_{couche} la profondeur de la couche considérée (épaisseur d'une couche de substrat, en m).

● Evaluation des stocks

Une fois que les masses de chaque MP contenues dans les différents échantillons et les différentes campagnes ont été obtenues, les stocks sont à présents évalués, c'est-à-dire la quantité de MP à un instant T (T0, T1 ou T2) contenue dans les deux FPR, dans chaque zone ou encore dans chaque substrat. Pour comparer les stocks entre ces trois variables, les masses doivent être **rapportées** aux surfaces ou volumes respectifs puisque les filtres et les zones n'ont pas les mêmes surfaces et que les substrats n'ont pas les mêmes masses volumiques.

En réalisant la somme des masses de MP de chaque échantillon d'un filtre, la **masse totale** (m_{totale} , en mg) présente dans chaque FPR à chaque campagne est obtenue (équ. (18)). Cela permet de suivre l'évolution brute des MP dans le temps pour chaque filtre, mais ne permet pas de comparer les FPR entre eux puisqu'ils ont une surface différente.

$$m_{totale} = \sum_{i=1}^n m_{MP \text{ éch } i} \quad (18)$$

Avec m_{totale} la masse totale de MP contenue dans chaque FPR pour chaque campagne (mg), $m_{MP \text{ éch } i}$ la masse de MP dans un échantillon i (mg) et n le nombre total d'échantillon i.

En divisant cette somme par la surface totale de chaque filtre, la masse totale de MP par unité de surface d'un filtre, appelée **masse surfacique** ($m_{surf \text{ filtre}}$ en mg/m²) est obtenue, permettant alors de comparer les deux **FPR** entre eux (équ. (19)).

$$m_{surf \text{ filtre}} = \frac{m_{totale}}{S_{filtre}} \quad (19)$$

Avec $m_{surf\ filtre}$ la masse surfacique de MP contenue dans chaque FPR pour chaque campagne (mg/m²) et S_{filtre} la surface totale de chaque FPR (m²).

De la même façon, en réalisant la somme des masses de MP contenues dans les différentes couches d'une même zone (eq (20)), puis en la divisant par la surface de chaque zone, la **masse surfacique** de chaque zone est obtenue ($m_{surf\ zone}$, en mg/m²), permettant de comparer cette fois les **zones** des FPR entre elles (amont, centre et aval ayant également des surfaces différentes) (eq. (21)).

$$m_{zone} = \sum_{i=1}^n m_{MP\ ech\ zone\ i} \quad (20)$$

Avec m_{zone} la masse totale de MP contenue dans chaque zone pour chaque campagne et FPR (mg), $m_{MP\ ech\ zone\ i}$ la masse de MP dans l'échantillon i de la zone considérée (mg) et n le nombre total d'échantillons i dans la zone considérée. La différence avec l'équation (eq. (18)) est donc qu'une zone sur trois des FPR est considérée à la fois.

$$m_{surf\ zone} = \frac{m_{zone}}{S_{zone}} \quad (21)$$

Avec $m_{surf\ zone}$ la masse surfacique de MP contenue dans chaque zone pour chaque campagne et FPR (mg/m²) et S_{zone} la surface totale de chaque zone (m²).

Enfin, les substrats ayant des masses volumiques très différentes, les masses dans les substrats peuvent être comparées entre elles si elles sont rapportées aux volumes. Pour cela, la somme des masses de MP contenues dans les différents échantillons d'un même substrat (pour toutes les zones) est d'abord réalisée (eq (22)), puis elle est divisée par son volume total. Cela permet d'obtenir la masse de MP par unité de volume de substrat aux différentes campagnes et FPR, appelée **teneur volumique** ($t_{vol\ substrat}$, en mg/m³) (eq. (23)). Ce terme est préféré à masse volumique pour limiter la confusion. Ces calculs sont également appliqués à **chaque échantillon**, permettant d'obtenir leurs teneurs volumiques respectives.

$$m_{substrat} = \sum_{i=1}^n m_{MP\ ech\ substrat\ i} \quad (22)$$

Avec $m_{substrat}$ la masse totale de MP contenue dans chaque substrat pour chaque campagne et FPR (mg), $m_{MP\ ech\ substrat\ i}$ la masse de MP dans l'échantillon i du substrat considéré (mg) et n le nombre total d'échantillons i dans le substrat considéré. La différence avec l'équation (eq. (18)) est donc qu'un seul substrat sur l'ensemble du FPR est considéré à la fois.

$$t_{vol\ substrat} = \frac{m_{substrat}}{V_{substrat}} \quad (23)$$

Avec $t_{vol\ substrat}$ la teneur volumique de MP contenue dans chaque substrat pour chaque campagne et FPR (mg/m³) et $V_{substrat}$ le volume total de chaque couche de substrat (m³).

● Evaluation de l'accumulation

L'objectif est maintenant d'obtenir l'accumulation de MP dans les FPR avec le temps et selon l'espace (zones et substrats). Une notion importante pour étudier cela est le **bruit de fond géochimique**. La campagne **T0** a permis de l'établir, il correspond aux teneurs en MP mesurées dans les différents échantillons au T0, avant le début de l'alimentation en eaux de ruissellement. Des différences de teneurs entre les zones pour un même substrat ayant été observées au T0, la moyenne des trois zones n'a pas été réalisée pour retrancher les valeurs. Ainsi, pour mesurer **l'accumulation massique entre deux campagnes**, il faut soustraire aux masses calculées lors des campagnes T1 et T2 celles de T0. Les équations (eq. (24.1), (24.2) et (24.3)) pour obtenir les masses accumulées de MP dans les différents échantillons au temps T1 ou T2 (par rapport à T0 ou T1) sont donc :

$$m_{acc\ an1} = m_{MP\ T1} - m_{MP\ T0} \quad (24.1)$$

$$m_{acc\ an2} = m_{MP\ T2} - m_{MP\ T0} \quad (24.2)$$

$$m_{acc\ an2} = m_{MP\ T2} - m_{MP\ T1} \quad (24.3)$$

Avec $m_{acc\ an\ x}$ la masse de MP accumulée dans un échantillon après 1 ou 2 ans donc entre deux pas de temps, T0-T1 (mg/~an), T0-T2 (mg/~2 ans) ou T1-T2 (mg/~an) et $m_{MP\ T_x}$ la masse de MP dans un échantillon de substrat (mg) mesurée au T0, T1 ou T2.

Une fois les masses de MP accumulées obtenues pour chaque échantillon composite, les temps entre les campagnes ne faisant pas exactement 1 et 2 ans, ces valeurs sont finalement rapportées au temps écoulé entre deux mesures pour avoir l'**accumulation massique réelle** (mg/an) (éq. (25)):

$$m_{acc\ réelle\ an\ x} = \frac{m_{acc\ an\ x}}{temps\ x\ réel} \quad (25)$$

Avec $m_{acc\ réelle\ x}$ la masse accumulée de MP d'un échantillon à exactement 1 ou 2 ans (mg/an) et $temps\ réel$ le réel pas de temps mesuré entre deux campagne (an).

Les mêmes **comparaisons** que celles des stocks peuvent maintenant être réalisées, en rapportant les masses accumulées aux volumes ou substrats des objets étudiés.

Afin de comparer les **substrats** entre eux, les masses accumulées sont rapportées aux volumes. Pour cela, les masses accumulées réelles de MP contenues dans chaque échantillon sont divisées par le volume de l'échantillon (éq (26)), permettant d'obtenir l'**accumulation volumique** (**Acc_{vol}**, en mg/m³/an) de chaque échantillon composite. Ce calcul est aussi réalisé par substrat, c'est-à-dire sur l'ensemble d'une couche (**Acc_{vol\ substrat}**), selon la même méthode que pour les teneurs volumiques mais avec des masses accumulées à la place (somme des masses accumulées des échantillons d'un même substrat divisée par le volume total du substrat dans le filtre, éq (22) et (23)).

$$Acc\ vol\ éch\ an\ x = \frac{m_{acc\ réelle\ an\ x}}{V_{éch}} \quad (26)$$

Avec $Acc\ vol\ éch\ an\ x$ l'accumulation volumique de MP contenue dans chaque substrat pour chaque campagne et FPR (mg/m³/an) et $V_{éch}$ le volume totale de chaque couche de substrat (m³).

Afin de comparer les zones ou les FPR entre eux, les masses accumulées de MP sont ensuite rapportées aux surfaces, permettant d'obtenir l'**accumulation surfacique** (**Acc_{surf}**, en mg/m²/an). Pour calculer l'accumulation surfacique dans l'ensemble de chaque **filtre**, la même méthode que pour les masses surfaciques est utilisée mais avec des masses accumulées à la place (somme des masses accumulées de tous les échantillons d'un FPR divisée par la surface totale du filtre, éq (18) et (19)).

Cependant, pour comparer les masses accumulées par **zone**, il n'est pas possible de soustraire les sommes des masses de MP d'une zone au T_{x-1} à celles de T_x de la même zone car contrairement aux filtres, leurs surfaces ont évolué avec le temps (augmentation de la zone amont au profit des deux autres). Il faut alors **corriger** cette évolution des surfaces (Figure 2.34).

La masse totale de MP en **amont** au temps T_{x-1} (exemple : T0 pour évaluer l'accumulation entre T0 et T1) est ramenée à la surface au temps T_x (T1 dans l'exemple) On aura donc l'équation (éq. (27)). La masse en amont au T0 est donc ramenée à la surface de la zone amont au T1, et les deux masses sont ainsi comparables.

$$m_{T0\ amont\ comparable} = m_{T0\ am} + ((m_{T0\ c}/S_{T0\ c}) * \Delta S1) \quad (27)$$

avec $\Delta S1 = S_{T1\ am} - S_{T0\ am}$

Avec $m_{T0\ amont\ comparable}$ la masse totale de MP dans la zone amont au T0 comparable avec celle au T1 (mg), $m_{T0\ am}$ la masse totale de MP dans la zone amont au T0 (mg), $m_{T0\ c}$ la masse totale de MP dans la zone centre au T0 (mg), $S_{T0\ c}$ la surface de la zone centre au T0 (m²), $\Delta S1$ la différence de surface entre les zones amont de T0 et T1 (m²), $S_{T1\ am}$ la surface de la zone amont au T1 (m²) et $S_{T0\ am}$ la surface de la zone amont au T0 (m²).

Pour la masse totale de MP au **centre**, il faut retirer la masse correspondant à la surface $\Delta S1$ et ajouter celle dans la surface $\Delta S2$ (éq. (28)). Les masses entre deux temps sont ainsi comparables.

$$m_{T0\ centre\ comparable} = m_{T0\ c} - ((m_{T0\ c}/S_{T0\ c}) * \Delta S1) + ((m_{T0\ av}/S_{T0\ av}) * \Delta S2) \quad (28)$$

avec $\Delta S2 = S_{T0\ av} - S_{T1\ av}$

Avec $m_{T0\text{ centre comparable}}$ la masse totale de MP dans la zone centre au T0 comparable avec celle au T1 (mg), m_{T0c} la masse totale de MP dans la zone centre au T0 (mg), $\Delta S2$ la différence de surface entre les zones aval de T0 et T1 (m²), m_{T0av} la masse totale de MP dans la zone aval au T0 (mg), S_{T0av} la surface de la zone aval au T0 (m²), S_{T1av} la surface de la zone aval au T1 (m²).

Enfin, pour la masse totale de MP en **aval**, la surface est plus grande au T_{X-1} qu'au T_X (diminution de cette zone avec le temps) donc il faut soustraire la masse de cette surface (éq. (29)). Les masses sont ainsi comparables entre deux temps.

$$m_{T0\text{ aval comparable}} = m_{T0av} - ((m_{T0av}/S_{T0av}) * \Delta S2) \quad (29)$$

Avec $m_{T0\text{ aval comparable}}$ la masse totale de MP dans la zone aval au T0 comparable avec celle au T1 (mg).

Ces corrections pour chaque zone permettent d'obtenir des masses comparables entre les deux temps. Il est alors possible de réaliser le calcul de l'accumulation massique des MP dans chaque zone selon l'équation (éq. (24)) appliquée à une masse totale dans une zone (somme des substrats). Puis elle est rapportée à la surface totale de chaque zone selon l'équation (éq. (21)), avec les masses accumulées à la place. L'accumulation surfacique dans chaque zone est alors obtenue pour chaque FPR et campagne.

Pour finir, le **sédiment** est la seule couche dont le volume n'était **pas constant** dans le temps. Ainsi, il a fallu appliquer la même correction que pour les surfaces différentes, mais appliqué aux volumes afin d'évaluer l'accumulation réelle qui n'était pas liée à l'accumulation de sédiment en surface.

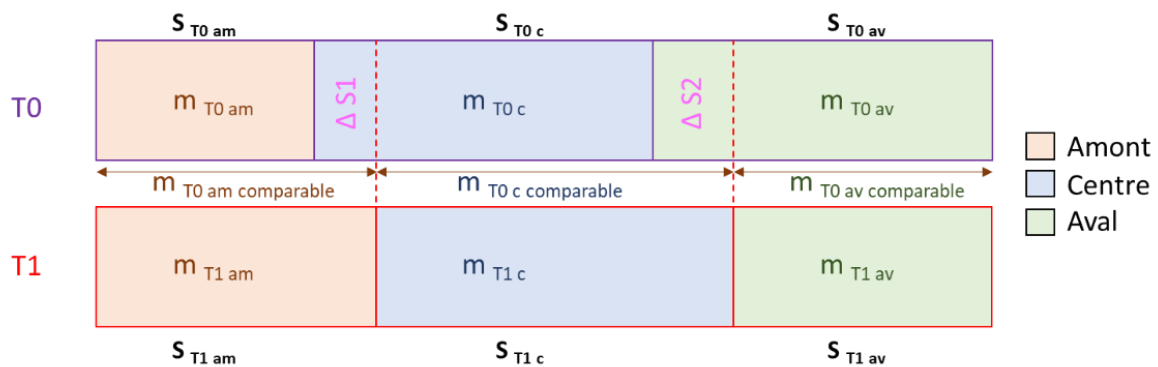


Figure 2.34 : Méthodologie utilisée pour rapporter les masses totales d'une zone (Am : amont ; C : centre ; Av : aval) du temps T_{X-1} à la surface du temps T_X, afin de pouvoir comparer les masses aux deux temps selon une même surface. Les trois zones sont représentées pour les deux campagnes (T0 et T1 dans l'exemple) et ont une surface (S) et une masse associée (m).

Le Tableau 2.31 synthétise finalement les comparaisons réalisées ainsi que leurs unités. Ces valeurs d'accumulation sont **comparables** entre les deux FPR, les différentes zones et les différents couches, caractérisés par des surface et volumes différents entre les FPR et avec le temps. Pour comparer les FPR et zones entre eux, la masse surfacique ou l'accumulation surfacique sont utilisées, pour comparer les substrats entre eux, la teneur volumique ou l'accumulation volumique sont utilisées. Dans le Chapitre XI, les résultats d'accumulation présentés seront surtout ceux calculés entre les campagnes **T1 et T2**, car une année complète d'alimentation en eau de ruissellement a eu lieu contrairement à entre les campagnes T0 et T1 (l'alimentation ayant débuté 5 mois après la campagne T0).

X-1.2.2. Bilan dans les roseaux

Pour rappel, un quadrat de 1 m² des **parties aériennes** de *P. australis* a été récupéré dans chaque zone des deux FPR. Les teneurs en MP (ETM, AP, BPA et HAP) ont ensuite été quantifiées dans ces échantillons. En parallèle, la masse totale des parties aériennes faucardées et donc exportées a été mesurée, permettant de connaître la biomasse totale des deux FPR (la masse propre à chaque FPR n'est pas connue).

Tableau 2.31 : Synthèse des termes et unités utilisés pour comparer les résultats (en stock ou en accumulation).

| Comparaison | Nom | Unité | Nom | Unité |
|--|--|---------------------|---|-------------------------------|
| Comparer un filtre dans le temps | Masse totale, Masse surfacique totale | g, g/m ² | Accumulation massique totale, Accumulation surfacique totale | g/an, g/m ² /an |
| Comparer les filtres entre eux à un même temps | Masse surfacique totale | g/m ² | Accumulation surfacique totale | g/m ² /an |
| Comparer les zones d'un filtre | Masse surfacique zone | g/m ² | Accumulation surfacique zone | g/m ² /an |
| Comparer les substrats d'un filtre | Teneur volumique | g/m ³ | Accumulation volumique | g/m ³ /an |

Afin de connaître l'**exportation massique des MP** lors du faucardage, les teneurs moyennes en polluants dans les deux FPR sont calculées, et sont rapportées en masse de polluants selon l'équation (éq. (30)).

$$m_{MP\ roseaux} = T\ moy_{MP\ roseaux} * m_{roseaux} \quad (30)$$

Avec $m_{MP\ roseaux}$ la masse du MP dans les parties aériennes des roseaux (mg), $T\ moy_{MP\ roseaux}$ la teneur moyenne en MP dans les parties aériennes des roseaux des deux FPR (mg/kg) et $m_{roseaux}$ la masse des parties aériennes des roseaux faucardée dans les deux FPR (kg).

Puis, afin d'obtenir l'**exportation surfacique des MP**, c'est-à-dire la quantité de MP exportée par unité de surface soit la masse surfacique ($m_{surf\ roseaux}$, en mg/m²), la masse totale de polluant exportée est divisée par la surface totale des deux FPR selon l'équation (éq. (31)).

$$m_{surf\ roseaux} = \frac{m_{MP\ roseaux}}{S_{totale}} \quad (31)$$

Avec $m_{surf\ roseaux}$ la masse surfacique des MP dans les roseaux des deux FPR (mg/m²) et S_{totale} la surface totale des deux FPR (m²).

Ces masses ou masses surfaciques de MP pourront être comparées avec les masses totales du massif filtrant des deux FPR regroupés. Cela permettra d'évaluer la contribution des parties aériennes de *P. australis* au stock total de MP dans les substrats des FPR. Les stocks dans les roseaux aériens et les deux massifs filtrants sont additionnés, puis la fraction liée aux parties aériennes est calculée (%).

X-1.2.3. Bilan de l'accumulation de sédiment avec le temps

L'**accumulation de sédiment** ayant eu lieu avec le temps est également calculée, entre T0 et T1 puis entre T1 et T2 (m³/an). La méthode est similaire à celle présentée dans le paragraphe précédent. Il suffit de soustraire le volume total mesuré au temps T_{x-1} à celui mesuré au temps T_x (éq. (24)) (m³/~an), puis de rapporter la valeur au réel temps écoulé entre les deux mesures (éq. (25)) (m³/an). Cela permet de connaître la dynamique globale d'accumulation de sédiment.

Pour le bilan de l'accumulation des micropolluants, ces volumes de sédiments aux T1 et T2 ont été utilisés. Cependant, les prélèvements de sédiment ayant été réalisés 6 mois après la campagne T2, les volumes de sédiment obtenus ont dû être rapportés au temps T2 (impliquant alors des volumes plus faibles de sédiment dans les deux FPR). L'hypothèse d'un apport constant de MES sur une année a été faite.

X-1.3. Méthode de calcul des incertitudes associées

Une façon possible d'estimer les incertitudes associées aux nombreuses équation utilisées pour le bilan de l'accumulation est d'utiliser les formules de propagation des incertitudes. D'autres méthodes existent mais n'ont pas pu être développées ici par manque de temps. Il y a par exemple la méthode stochastique de Monte-Carlo (*Flanagan et al., 2019 ; Bertrand-Krajewski et al., 2000 ; Bertrand-Krajewski et al., 2021*). La réflexion des incertitudes est aujourd'hui en cours afin d'obtenir des incertitudes pour la publication des données. Elles ne seront donc pas appliquées aux résultats dans ce manuscrit.

Pour la méthode de propagation des incertitudes, les incertitudes **maximales** sont calculées à chaque étape de calcul du bilan. Les incertitudes grandissent alors à mesure que le nombre d'étape augmente. Les équations utilisées sont différentes selon si le calcul est une addition ou une multiplication/division (éq. (32), éq. (33)).

La propagation de l'incertitude absolue (ΔA) sur une addition ou soustraction ($A = B + C + \text{etc.}$) dont chaque terme est associé à une incertitude absolue (ΔB ΔC et Δetc) est :

$$\Delta A = \Delta B + \Delta C + \Delta \text{etc} \quad (32)$$

La propagation de l'incertitude absolue (ΔA) sur une multiplication ou division ($A = B \cdot C$ ou $A = B/C$) dont chaque terme est associé à une incertitude absolue est :

$$\Delta A = A * \left(\frac{\Delta B}{B} + \frac{\Delta C}{C} + \frac{\Delta \text{etc}}{\text{etc}} \right) \quad (33)$$

Ainsi, pour chaque étape de calcul présentée précédemment, une incertitude est calculée. Le **Zn** dans le **sable de surface** du filtre **FS** à **T1** et **T2** est pris comme exemple pour expliquer la méthode lors du calcul de l'accumulation du Zn dans cette couche (Tableaux 2.32, 2.33, 2.34). La méthode est détaillée dans l'Annexe 2-18.

Tableau 2.32 : Calcul de la masse de Zn dans les échantillons de sable de surface du filtre FS aux temps T1 et T2, et les incertitudes associées (en bleu).

| | | 1 | | | | 2 |
|--------------------|----------------------------|-------------------|----------------------------|---------------------|-------|--------------|
| | | Teneur Zn (mg/kg) | ρ (g/m ³) | S (m ²) | h (m) | Masse m (mg) |
| FS-Ss-Am-T1 | Valeur | 84,58 | 1563,2 | 177 | 0,1 | 2340214 |
| | Incertitude absolue | 6,16 | 34,8 | 1 | 0,01 | 469881 |
| FS-Ss-C-T1 | Valeur | 41,45 | 1563,2 | 349 | 0,1 | 2261333 |
| | Incertitude absolue | 4,3509 | 34,8 | 1 | 0,01 | 520355 |
| FS-Ss-Av-T1 | Valeur | 36,37 | 1563,2 | 157 | 0,1 | 892601 |
| | Incertitude absolue | 4,13754 | 34,8 | 1 | 0,01 | 216375 |
| FS-Ss-Am-T2 | Valeur | 133,76 | 1543,2 | 287 | 0,1 | 5924394 |
| | Incertitude absolue | 4,41 | 116,5 | 1 | 0,01 | 1255639 |
| FS-Ss-C-T2 | Valeur | 64,9467 | 1543,2 | 221 | 0,1 | 2215025 |
| | Incertitude absolue | 2,348401 | 116,5 | 1 | 0,01 | 478784 |
| FS-Ss-Av-T2 | Valeur | 46,2415 | 1543,2 | 175 | 0,1 | 1248818 |
| | Incertitude absolue | 1,787245 | 116,5 | 1 | 0,01 | 274532 |

Tableau 2.33 : Calcul de la masse totale, puis de la teneur volumique du Zn dans le sable de surface au T1 et T2, et les incertitudes associées.

| | | 3 | 4 | | | 5 |
|----------|----------------------------|-------------------|------------------------|----------|------------------------|--|
| | | Masse totale (mg) | S FS (m ²) | h Ss (m) | V FS (m ³) | Teneur volumique Tv (mg/m ³) |
| FS-Ss-T1 | Valeur | 5494148 | 683 | 0,1 | 68,3 | 80441 |
| | Incertitude absolue | 1206611 | 1 | 0,01 | 6,93 | 25828 |
| FS-Ss-T2 | Valeur | 9388237 | 683 | 0,1 | 68,3 | 137456 |
| | Incertitude absolue | 2008955 | 1 | 0,01 | 6,93 | 43361 |

Tableau 2.34 : Calcul de la masse accumulée entre T1 et T2, puis de l'accumulation volumique du Zn dans le sable de surface entre T1 et T2, et les incertitudes associées.

| | | 6 | 7 | | 8 | | | 9 | |
|-------------|----------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---|------------------------|----------|------------------------|--|---|
| | | Accumulation (mg _{acc} /~an) | Temps entre les campagnes (an) | Accumulation réelle (mg _{acc} /an) | S FS (m ²) | h Ss (m) | V FS (m ³) | Accumulation volumique (mg _{acc} /m ³ /an) | Accumulation volumique (g _{acc} /m ³ /an) |
| FS-Ss-T1-T2 | Valeur | 3894089 | 1,05 | 3691799 | 683 | 0,1 | 68,3 | 54052,69 | 54,1 |
| | Incertitude absolue | 3215566 | 0,00068 | 3050920 | 1 | 0,01 | 6,93 | 50153,8 | 50,2 |

Ainsi, entre T1 et T2, l'accumulation volumique en Zn dans le sable de surface était de 54,1 g/m³/an et l'incertitude était de 50,2 g/m³/an, soit une incertitude de 93 % (colonne 5, Tableau 2.34). Cette méthode montre donc ses limites, avec une incertitude presque égale à la valeur finale. Cela s'explique par le nombre d'étapes importantes pour calculer l'accumulation volumique, qui propage de plus en plus des incertitudes maximales jusqu'à cette valeur très élevée. Cette méthode n'est donc pas applicable dans ce contexte puisqu'elle surévalue l'erreur associée aux calculs. Il faudra alors se tourner vers des méthodes statistiques plus robustes. Elle a tout de même été utilisée pour le calcul de l'accumulation de sédiment (volume) car un nombre beaucoup plus faible d'étape de calcul était nécessaire.

X-2. Traitements statistiques

Les traitements statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel **R** (R Core Team, version 4.2.2, 2022). Tout d'abord, la normalité des échantillons a été testée avec le test de Shapiro-Wilk. Quand la normalité n'était pas respectée, des **tests non paramétriques** ont été utilisés.

Afin de comparer plusieurs échantillons entre eux (plus de deux échantillons), le test non paramétrique **Kruskal-Wallis** a été réalisé, puis les comparaisons multiples ont été réalisées avec la méthode Conover et l'ajustement de Bonferroni (package « conover.test », Dinno, 2017). Une p-value < 0,05 impliquait une significativité de la différence. Pour comparer deux échantillons entre eux, le test non paramétrique de Wilcoxon a été réalisé et une p-value < 0,05 impliquait également une significativité de la différence. Enfin, pour la comparaison des distances obtenues par la diversité bêta, une PERMANOVA était réalisée sur QIIME 2. Une p-value < 0,05 impliquait une significativité de la différence.

Afin de réaliser des analyses multivariées des données, des **ACP** ont été réalisées à l'aide du package « FactomineR » et de la fonction « Factoshiny » (Lê et al., 2008). Pour évaluer la corrélation entre des données, des **matrices de corrélation** ont été réalisées à l'aide du package « corrplot » selon la méthode non-paramétrique de Spearman (Wei, 2021).

Les **graphiques** réalisés sur R ont été effectués à l'aide du package « ggplot2 » (Wickham, 2016). Les **heatmap** (avec ou sans Z-score) ont été réalisées à l'aide du package « pheatmap » (Kolde, 2012).

Pour toutes les données obtenues hors bilans d'accumulation des MP dans les substrats et roseaux, lorsque les valeurs étaient **inférieures à la LQ**, le choix méthodologique a été de **diviser par deux** la valeur de LQ afin d'avoir un chiffre (et pouvoir faire des graphiques et analyses statistiques).

Pour les bilans d'accumulation dans les substrats et roseaux, les teneurs ayant une valeur inférieure à la LQ ont pris la **valeur de la LQ** afin de se situer dans le « pire » scénario. Cela peut donc surestimer légèrement les valeurs réelles.

D'autres méthodes existent, de nature statistique (Helsel, 2011), cependant, le nombre de données n'était pas suffisant pour y réaliser des études statistiques, justifiant alors notre choix (par exemple, pour l'analyse des MP lors des campagnes, une seule analyse était réalisée pour chaque échantillon, ce qui est trop peu pour pouvoir utiliser une méthode statistique).

PARTIE 3 - RESULTATS ET DISCUSSION

XI - Evolution spatio-temporelle des filtres : accumulation de micropolluants et colonisation des filtres par les microorganismes

Le premier chapitre présente les résultats issus des **trois campagnes de prélèvement** ayant eu lieu sur le filtre planté de roseaux (FPR) en trois ans de suivi: état initial (T0, septembre 2020), un an après (T1, septembre-octobre 2021) et deux ans après (T2, septembre-octobre 2022). L'**objectif** était de caractériser les substrats et sédiments des deux FPR et d'évaluer leur **évolution** dans le **temps** et l'**espace** en termes de propriétés physico-chimiques des substrats (sable de surface, Rainclean, sable profond et à partir de T1, sédiment), de développement du dépôt de sédiment, de stockage et d'accumulation de micropolluants au sein des substrats et des végétaux et enfin en termes de développement des communautés microbiennes des substrats. Cela permettra de répondre aux **questions** suivantes :

- Quelles sont les propriétés physico-chimiques des différents substrats constituant les massifs filtrants des deux filtres, et comment évoluent-elles ?
- Où et comment sont stockés les micropolluants organiques et métalliques retenus ? Quelle est leur accumulation annuelle ? Une différence de stockage et d'accumulation est-elle observée entre les deux FPR ?
- La végétation participe-t-elle à l'accumulation des micropolluants dans les FPR ?
- Les substrats sont-ils considérés comme « pollués » après deux ans d'alimentation ?
- Quelles communautés bactériennes et fongiques sont présentes dans les deux filtres et quelles sont leurs activités ? Sont-elles impactées dans le temps et l'espace par l'apport d'eau de ruissellement contaminée ?

Les résultats obtenus seront donc évalués et comparés en termes de **substrat** (sable de surface *Ss*, Rainclean *Rc*, sable profond *Sp* et sédiment *Sdt*), de **localisation horizontale** (amont *Am*, centre *C*, aval *Av* de la zone d'alimentation en eau), de **filtre** (conventionnel *FS* et innovant *FR*) et de **temps** (*T0*, *T1* et *T2*). La campagne T0 sert de référence pour comparer l'évolution des différents échantillons.

Pour rappel, la superficie totale des deux FPR est de 1 290 m², le filtre conventionnel mesurant 680 m² et le filtre innovant 610 m², ce dernier étant moins large. Les filtres FS et FR ont reçus un total de 30 480 et 29 130 m³ d'eau entre T0 et T1 et 127 450 et 143 240 m³ d'eau entre T0 et T2, correspondant à un mélange d'eaux de ruissellement par temps de pluie et d'eaux claires par temps sec (Annexe 2-2). Le volume d'eau ayant circulé par temps sec n'était pas négligeable, il représentait 49 et 56 % du volume total ayant circulé dans FS et FR entre T0 et T1, et représentait 55 et 66 % du volume total ayant circulé dans FS et FR entre T0 et T2, soit un peu plus de la moitié des volumes totaux.

XI.1. Caractérisation et évolution des propriétés physico-chimiques des substrats et sédiments

XI.1.1. Des substrats aux propriétés physico-chimiques différentes ...

Pour commencer, la caractérisation des deux FPR passe par l'étude de l'évolution des propriétés physico-chimiques du massif filtrant. Le Tableau 3.1 résume les principaux résultats des trois campagnes. Les filtres ont été construits avec deux substrats, le sable et le RC, puis du sédiment s'est accumulé en surface du sable.

Premièrement, concernant le **sable**, ce substrat était initialement caractérisé par une granulométrie grossière (en moyenne, plus de 97 % de sable, de 2 % de limon et de 0,5 % d'argile) (Figure 3.1 et Annexe 3-1) ayant un pH basique, de 8,6 en surface et en profondeur pour le filtre FS et de 8,6 et de 9,0 en surface et profondeur (sous le Rainclean) du filtre FR respectivement. Ce substrat présentait également des teneurs faibles en carbonates, carbone organique et en azote (< 5 g

Tableau 3.1 : Evolution des principales propriétés physico-chimiques des différents substrats étudiés selon le filtre, la localisation et le temps. Sdt : sédiment (jaune) ; Ss : sable de surface (blanc) ; Rc : Rainclean (gris) ; Sp : sable profond (blanc). CEC : Capacité d'Echange Cationique. nd : non disponible. Les valeurs « < x » sont celles en dessous de leur limite de quantification (x).

| Filtre | Echantillon | pH | | | Carbonates (g/kg) | | | Carbone (C) organique (g/kg) | | | Azote (N) total (g/kg) | | | C/N | | | CEC (me/100g = cmol ⁺ /kg) | | | Masse volumique (kg/m ³) | | |
|----------------|-------------|-----|-----|-----|-------------------|------|-----|------------------------------|-------|------|------------------------|------|------|-------|------|------|---------------------------------------|------|------|--------------------------------------|------|------|
| | | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 |
| FS : Sable | Sdt-Amont | 7,7 | 7,9 | | 187 | 189 | | 141 | 142 | | 5,21 | 5,56 | | 27,1 | 25,5 | | 17,5 | 23,0 | | 607 | 607 | |
| | Ss-Amont | 8,4 | 9,0 | 8,1 | <5 | <5 | 14 | 0,8 | 5,0 | 27,0 | <0,1 | <0,1 | 1,08 | nd | nd | 25,0 | 1,1 | 1,5 | 2,7 | 1604 | 1563 | 1543 |
| | Ss-Centre | 8,6 | 9,2 | 8,4 | <5 | <5 | 6 | 1,2 | 5,0 | 7,0 | <0,1 | <0,1 | 0,27 | nd | nd | 25,9 | 1,0 | 1,1 | 1,7 | 1604 | 1563 | 1543 |
| | Ss-Aval | 8,7 | 8,9 | 7,9 | <5 | <5 | <5 | 1,1 | 2,9 | 4,8 | <0,1 | <0,1 | 0,19 | nd | nd | 25,3 | 1,1 | 1,2 | 1,8 | 1604 | 1563 | 1543 |
| | Sp-Amont | 8,4 | 8,9 | 7,9 | <5 | <5 | <5 | 0,8 | 1,9 | 1,6 | <0,1 | <0,1 | 0,13 | nd | nd | 12,3 | 1,1 | 0,97 | 1,3 | 1604 | 1438 | 1579 |
| | Sp-Centre | 8,6 | 9,0 | 7,8 | <5 | <5 | <5 | 1,2 | 1,9 | 1,4 | <0,1 | <0,1 | 0,12 | nd | nd | 11,7 | 1,0 | 0,96 | 1,4 | 1604 | 1438 | 1579 |
| | Sp-Aval | 8,7 | 8,6 | 7,8 | <5 | <5 | <5 | 1,1 | <1,67 | 1,2 | <0,1 | <0,1 | 0,12 | nd | nd | 10,0 | 1,1 | 1,1 | 1,5 | 1604 | 1438 | 1579 |
| FR : Rainclean | Sdt-Amont | 7,3 | 7,9 | | 259 | 213 | | 161 | 152 | | 4,99 | 5,46 | | 32,3 | 27,8 | | 19,3 | 19,8 | | 628 | 628 | |
| | Ss-Amont | 8,6 | 8,6 | 8,2 | 5 | 11,4 | 20 | 1,3 | 8,0 | 12,0 | <0,1 | <0,1 | 0,53 | nd | nd | 22,6 | 1,1 | 2,6 | 2,2 | 1563 | 1473 | 1475 |
| | Ss-Centre | 8,5 | 9,2 | 8,4 | <5 | 7 | 19 | 1,1 | 3,8 | 9,0 | <0,1 | <0,1 | 0,35 | nd | nd | 25,7 | 0,96 | 1,5 | 1,5 | 1563 | 1473 | 1475 |
| | Ss-Aval | 8,5 | 9,3 | 8,5 | 5 | <5 | 7 | 1,1 | 2,9 | 5,8 | <0,1 | <0,1 | 0,26 | nd | nd | 22,3 | 1,1 | 1,4 | 2,2 | 1563 | 1473 | 1475 |
| | RC-Amont | 9,1 | 9,1 | 8,5 | 49 | 243 | 198 | 19,5 | 19,7 | 22,8 | 0,19 | <0,1 | 0,37 | 102,6 | nd | 61,6 | 24,6 | 26,2 | 37,4 | 460 | 550 | 576 |
| | RC-Centre | 9,1 | 9,1 | 8,7 | 47 | 120 | 145 | 20,1 | 18,9 | 19,7 | 0,22 | <0,1 | 0,39 | 91,4 | nd | 50,5 | 29,8 | 28,4 | 33,4 | 460 | 550 | 576 |
| | RC-Aval | 9,2 | 9,0 | 8,8 | 47 | 90,9 | 176 | 24,4 | 23,4 | 21,8 | 0,2 | <0,1 | 0,37 | 122,0 | nd | 58,9 | 28,0 | 29,2 | 33,8 | 460 | 550 | 576 |
| | Sp-Amont | 9,0 | 9,4 | 8,8 | <5 | <5 | <5 | 0,8 | 2,8 | 1,9 | <0,1 | <0,1 | <0,1 | nd | nd | nd | 1,3 | 2,0 | 1,9 | 1604 | 1438 | 1579 |
| | Sp-Centre | 9,0 | 9,3 | 8,9 | <5 | 6 | 8 | 0,8 | 1,9 | 1,8 | <0,1 | <0,1 | 0,11 | nd | nd | 16,4 | 1,3 | 1,5 | 1,9 | 1604 | 1438 | 1579 |
| Sp-Aval | 9,0 | 9,3 | 8,9 | <5 | 6 | 8 | 0,8 | 1,9 | 1,8 | <0,1 | <0,1 | 0,11 | nd | nd | 16,4 | 1,3 | 1,5 | 1,9 | 1604 | 1438 | 1579 | |

CaCO₃/kg, entre 0,8 et 1,3 g C_{orga}/kg et < 0,1 g N_{total}/kg au T0). Les faibles teneurs en carbone organique et azote total ne permettait que de donner une indication du rapport C/N qui serait entre 8 et 12 au minimum (en prenant la valeur de 0,1 g/kg d'azote). Enfin, la capacité d'échange cationique (CEC) du sable était autour de 1,1 me/100g dans le sable de surface dans les deux FPR et de 1,3 dans le sable profond du filtre FR. Les résultats ne montraient ainsi aucune différence de propriété physico-chimique selon la localisation (amont-centre-aval) dans les FPR au T0 et étaient peu différentes d'un sable de construction.

Concernant le **Rainclean** (RC, uniquement dans le filtre FR), sa granulométrie était également grossière mais contenait plus de granulat fin type limons (90 % de sable, 9 % de limon et 1 % d'argile en moyenne) que le sable (Figure 3.1 et Annexe 3-1). Le pH du RC était plus basique que le sable, avec en moyenne un pH de 9,1 et était plus riche en carbonates (47,7 g CaCO₃/kg en moyenne), en carbone organique (21,3 g C_{orga}/kg en moyenne) et en azote (0,20 g N/kg en moyenne). Le rapport C/N de 105 est ainsi bien plus élevé que celui de sable. Enfin, avec des valeurs de CEC de 27,5 me/100g en moyenne, ce substrat joue bien son rôle d'adsorbant, avec de nombreux sites de sorption par rapport au sable (26 fois plus de sites en moyenne) (Girard et al., 2011). L'alcalinité de ce substrat favorisera le maintien d'une CEC effective élevée (Julien et Tessier, 2021). La masse volumique de ce substrat était très faible par rapport au sable, lié à sa porosité (de 38 %) et ses composants (voir le chapitre VI-3). Ces différentes valeurs de paramètres sont cohérentes avec celles certifiées par le producteur (Funke Gruppe, 2020). De plus, contrairement au sable, de légères différences entre les trois zones s'observaient initialement dans le RC. Les teneurs en carbone organique et la CEC dans le RC augmentaient d'amont vers aval (19,5 contre 24,4 g C_{orga}/kg, en amont et aval respectivement). Cela pourrait s'expliquer par le lessivage du RC avec les eaux d'arrosage non contaminées (avant le T0) qui arrivaient par l'amont du filtre (zone ainsi plus sollicitée). Les valeurs légèrement plus élevées de pH et de CEC constatées dans le sable profond du filtre FR peuvent donc s'expliquer par la présence du RC juste au-dessus : son lessivage et élution par les eaux impacterait la couche profonde.

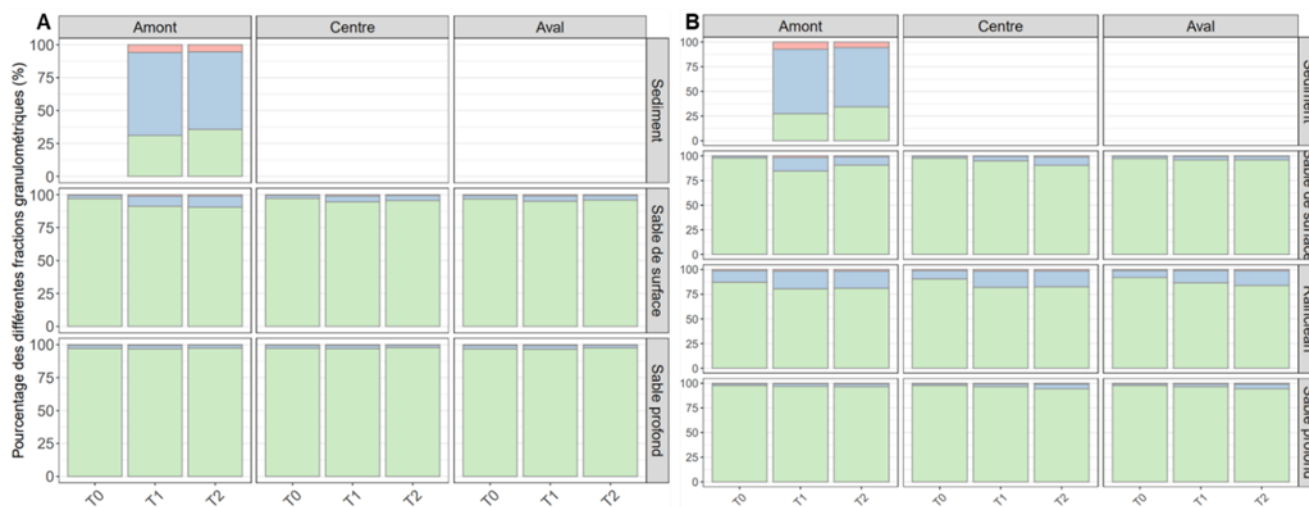


Figure 3.1 : Evolution de la granulométrie des substrats étudiés selon le temps et l'espace dans le filtre FS (A) et le filtre FR (B). Rouge : argile ; bleu : limon ; Vert : sable. Les % exacts sont fournis dans l' Annexe 3-1.

Le **sédiment** est le troisième type de substrat du filtre, même s'il ne faisait pas partie de sa composition initialement (T0). Il a été apporté avec le temps par les eaux de ruissellement et retenu à la surface du sable lié à sa granulométrie. Sa caractérisation a donc débuté un an après (T1), uniquement dans la partie amont des deux filtres. La granulométrie du sédiment était bien plus fine que les deux précédents substrats, avec le limon qui dominait (29 % de sable, 64 % de limons et 6,6 % d'argile en moyenne, Figure 3.1 et Annexe 3-1) et le pH était proche de la neutralité (pH moyen de 7,5). 90 % des particules avaient un diamètre inférieur à 200 µm, ce qui a également été reporté dans les sédiments d'un bassin d'infiltration d'eaux de ruissellement (Lassabatere et al., 2010). Puis, ce substrat était caractérisé par les plus fortes valeurs de carbonates (187 et 259 g CaCO₃/kg dans le filtre FS et FR respectivement), carbone organique (141 et 161 g C_{orga}/kg dans le filtre FS et FR) et azote (5,21 et 4,99 g N/kg dans le filtre FS et FR). Ainsi, le rapport C/N était plus équilibré dans le sédiment (entre 27,1 et 32,3) par rapport au RC. La CEC du sédiment était plus faible que celle du RC mais restait

élevée (Girard et al., 2011), avec des valeurs entre 17,5 et 19,3 me/100g dans le filtre FS et FR respectivement et la masse volumique était proche du RC. De légères différences de propriétés du sédiment s'observaient ainsi entre les deux filtres dès un an de fonctionnement, le filtre FS ayant moins de carbonates et de carbone organique impliquant alors une CEC plus faible, mais légèrement plus d'azote que le filtre FR.

Les propriétés des sédiments dans des FPR verticaux ont été uniquement étudiées dans le cadre d'eaux usées (Kania et al., 2019 ; Kania et al., 2018 ; Kim et al., 2013 ; Trein et al., 2020), ainsi il faut se tourner vers d'autres types d'OGEP. Les valeurs de pH étaient similaires à celles mesurées dans des bassins de rétention pour des eaux de ruissellement de voiries (Clozel et al., 2006) et dans une mare de sédimentation pour des eaux de ruissellement urbain (Lenormand, 2022) où les pH étaient compris entre 6,5 et 8,2 et entre 6,9 et 7,6 respectivement. Les masses volumiques mesurées étaient également du même ordre de grandeur que celles de deux bassins de rétention pour des eaux de ruissellement urbains (Lassabatere et al., 2010, 635 kg/m³). Enfin, les taux de matières organiques du sédiment étaient proches de ceux mesurés par Lenormand (2022), qui étaient compris entre 23,2 et 29,4 % (entre 23,1 et 26,4 % dans la présente étude).

Les trois substrats étudiés sont ainsi dès le début de leur étude caractérisés par des propriétés physico-chimiques **très différentes**, en raison de leur nature différente. Le sable est inerte, basique et peu organique tandis que le RC et sédiment sont plus riches en carbone organique (surtout le sédiment) et sites de sorption mais le premier est plus grossier et basique tandis que le second est plus fin et neutre.

XI.1.2. ... Se différenciant selon l'espace et le temps

Avec le **temps et l'alimentation en eaux de ruissellement**, les FPR ont évolué, notamment au travers de leurs propriétés physico-chimiques. Premièrement, le **sédiment** a montré des faibles changements dans le temps (pH, carbonates, carbone organique, azote) (Tableau 3.1). Kania et al. (2019) ont montré que plus un FPR fonctionnait, plus les teneurs en carbone organique diminuaient dans le sédiment. Ils ont lié cela à l'hydrolyse et la minéralisation progressive des MO dans le sédiment avec le temps. Les teneurs en carbone organique ne semblent ainsi pas vouées à augmenter dans ce système, ce qui était observé dans la présente étude entre T1 et T2. Enfin, la granulométrie du sédiment a faiblement varié entre T1 et T2, une faible augmentation des pourcentages de sable a été observée (probablement liée aux prélèvements ayant récupéré un peu de la couche sous-jacente de sable).

Pour le **sable**, mis à part le pH, les paramètres mesurés ont eu tendance à augmenter avec le temps et cette augmentation était croissante selon le rapprochement de la zone amont (Tableau 3.1). En effet, les teneurs en carbonates ont augmenté dès T1 dans la zone amont et centrale du filtre FR et étaient plus élevées et différenciées au T2 dans les deux FPR, avec amont > centre > aval (14 contre < 5 g CaCO₃/kg et 20 contre 7 g CaCO₃/kg entre l'amont et l'aval des filtres FS et FR respectivement). L'augmentation du carbone organique était également nette selon le temps et la localisation ; la Figure 3.2A montre une accumulation de carbone organique avec le temps pour tous les sables de surface et particulièrement dans la zone amont, puis centrale, puis avale dans les deux filtres. Au T2, le filtre FS en amont présentait l'accumulation la plus grande (26,2 contre 10,7 g C_{orga accumulé}/kg dans le sable amont de FS et FR). Le **facteur d'enrichissement**, calculé comme le rapport entre le temps T2 et le temps initial T0 permet d'évaluer à quel point les variables ont été enrichies (facteur supérieur à 1) ou appauvries (facteur inférieur à 1). En amont des deux filtres, le facteur du carbone organique était de 33,8 et 9,2 tandis qu'en aval, il était de 4,4 et 5,3 pour FS et FR respectivement. Ce paramètre est donc un indicateur de la localisation horizontale du sable de surface dans les deux FPR.

L'azote n'a pas varié entre T0 et T1 (toujours < 0,1 g N/kg), c'est au T2 que l'augmentation était visible dans le sable de surface avec amont > centre > aval dans les deux filtres (1,08 contre 0,19 g N/kg et 0,53 contre 0,26 g N/kg en amont et aval du filtre FS et FR respectivement), le filtre FS ayant des teneurs un peu plus élevées en amont que le filtre FR. Le rapport C/N a ainsi pu être calculé uniquement au T2, il était constant entre les FPR et la localisation (rapport entre 22 et 26) et était proche des valeurs retrouvées dans le sédiment. L'augmentation de la CEC dans le sable de surface était visible dès T1 en amont de FS et dans les trois zones pour FR (avec amont > centre et aval). Au T2, la CEC était la plus élevée en amont également avec des valeurs plus fortes qu'au T1 (2,7 et 2,2 mg/100g en amont

de FS et FR), cependant, l'aval du filtre FR montrait des valeurs similaires à l'amont. Enfin, concernant sa granulométrie (Figure 3.1), un enrichissement en limon était observé dès T1 et était plus important en amont des deux filtres (passant de 2,3 à 8,3 % en amont de FS et de 1,9 à 8,4 % dans FR entre T0 et T2), ce substrat restant tout de même à dominance sableuse. Cet enrichissement en limon expliquerait l'augmentation de la CEC dans ce substrat.

Ainsi, l'apport d'eaux de ruissellement par l'amont du filtre a provoqué une différenciation du sable de surface avec le temps, la partie amont étant celle qui a le plus évoluée (augmentation du carbone organique, de l'azote total, de la CEC, du pourcentage de limon et des carbonates). Cette évolution temporelle a été montrée dans une cellule de biorétention d'eaux de ruissellement (Costello et al., 2020) et l'évolution spatiale a été montrée dans un bassin d'infiltration (amont > aval) (Dechesne et al., 2004) et dans une cellule de biorétention (Johnson et Hunt, 2016), les parties amont étant plus riches en carbone organique et ayant une plus grande CEC. Cela s'explique par la filtration des eaux au travers du sable de surface ; les matières en suspension (MES) fines non retenues sous forme de sédiment lors de la sédimentation sont déposées entre les pores du sable de surface et impactent alors ses propriétés physico-chimiques. Cela implique donc une diminution de la taille des particules et une augmentation des autres paramètres physico-chimiques avec le rapprochement de la zone amont et de la surface pour ce sable. Ce processus de filtration ayant surtout lieu en amont, il indique une sédimentation rapide des MES de l'eau en surface des FPR.

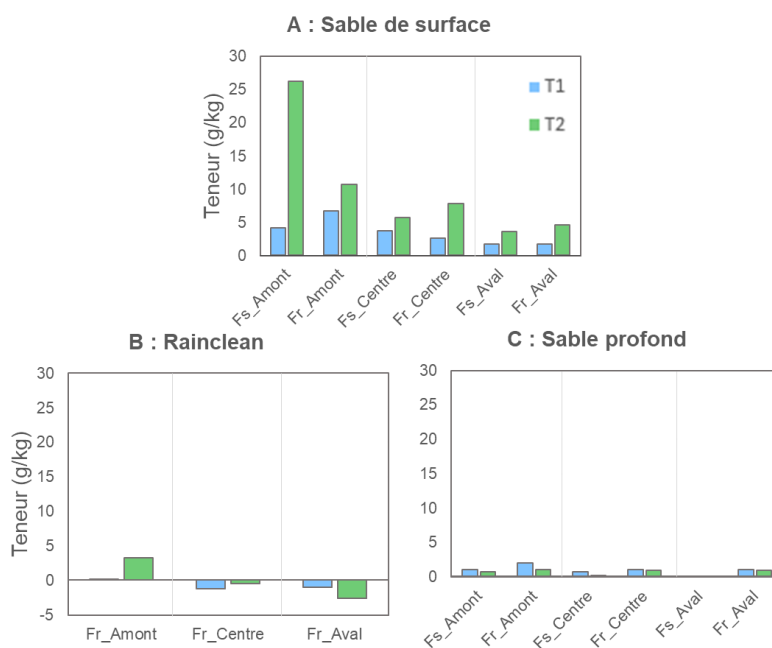


Figure 3.2 : Evolution des teneurs en carbone organique **accumulées** (g/kg) dans les différents substrats. A : sable de surface ; B : Rainclean ; C : sable profond. L'accumulation entre T0 et T1 est représentée en bleu et l'accumulation entre T0 et T2 est représentée en vert.

Concernant le **Rainclean**, certains paramètres ont vu leurs valeurs augmenter, stagner ou diminuer au cours du temps. Tout d'abord, le RC s'est fortement enrichi en carbonates dès T1 et a continué de s'enrichir au T2 sauf pour la zone amont (243 à 198 g CaCO₃/kg), qui restait toutefois supérieure aux deux autres zones. Pour l'azote total, après une diminution des teneurs au T1, elles ont finalement dépassé les valeurs mesurées au T0 (de <0,1 à 0,53 g N/kg) de façon homogène sur le filtre FR. Puis, la CEC a également augmenté avec le temps, surtout entre T1 et T2 et le RC amont présentait finalement des valeurs plus élevées que les deux autres zones (37,1 contre 33,4 et 33,8 me/100g en amont, centre et aval respectivement). Le carbone organique a ensuite globalement stagné avec le temps, mais la Figure 3.2B indique que seul le RC en amont du filtre a accumulé un peu de carbone organique après deux ans de fonctionnement (les autres zones ont eu tendance légèrement s'appauvrir, surtout en aval). Cependant, ces valeurs accumulées restent faibles par rapport au sable de surface, en amont, le facteur d'enrichissement était de 1,2.

En termes de diminution, le pH du RC n'a pas évolué entre T0 et T1 mais a légèrement diminué lors de la campagne T2 (passant de 9,1 à 8,7 en moyenne) de façon homogène dans le filtre. Le rapport C/N du RC a également diminué avec le temps lié à l'augmentation d'azote dans ce substrat, et il était le plus élevé en amont au T2 (61,6 contre 50,5 et 58,9 en amont, centre et aval respectivement). Il restait toutefois bien supérieur au rapport dans le sédiment et sable de surface indiquant une domination du carbone organique sur l'azote. Enfin, une diminution des pourcentages en sable liée à une augmentation de limon était observée pour le RC de l'ensemble du filtre, avec un peu plus de limon en amont. Ces résultats indiquent qu'en deux ans de fonctionnement, le RC n'a pas perdu en fonctions adsorbantes mais également que la majorité du carbone organique contenu dans les eaux était retenue plutôt dans les couches sus-jacentes du RC. Les propriétés physico-chimiques de ce substrat n'ont, à ce jour, pas été étudiées par d'autres auteurs, il n'est donc pas possible de comparer son évolution.

Enfin le **sable profond** est le substrat ayant le moins évolué dans le temps et l'espace. Il est donc séparé du sable de surface dès la campagne T1. Mis à part le pH (légère augmentation puis légère diminution, le filtre FR étant plus basique que le filtre FS lié au RC), les paramètres ont globalement soit stagné soit légèrement augmenté entre T0 et T2. Les carbonates ont stagné avec le temps (toujours inférieurs à 5 g/kg et de < 5 à 8 au maximum dans FS et FR au T2). Le carbone organique, initialement similaire à celui du sable de surface a très légèrement augmenté dans le sable profond, montrant un enrichissement maximum de 2,0 et 2,4 en amont de FS et FR respectivement, ce qui reste inférieur au sable de surface, même en aval (Figure 3.2C). Le filtre FS montrait une accumulation un peu plus élevée en amont qu'au centre et à l'aval au T2 ($0,8 > 0,6 > 0,2$ g $C_{orga\ acc}/kg$ en amont, centre et aval) tandis que le filtre FR était plus constant et accumulait un peu plus dans ce substrat (entre 1,8 et 1,9 $C_{orga\ acc}/kg$).

Puis, les teneurs en azote ont globalement stagné avec le temps, et ne montraient pas de différence selon la localisation. Le rapport C/N du sable profond était plus faible que celui de surface et il était plus élevé dans le filtre FR lié à ses teneurs en carbone organique et en azote (rapport de 16,4 contre entre 10 et 12,3 dans le filtre FR et FS). Le sable profond avait des CEC plus faibles que le sable de surface et évoluait plus faiblement dans le temps, avec les valeurs dans le filtre FR supérieures à celles de FS (1,9 contre 1,3 à 1,5 me/100g dans FR et FS) mais sans différence selon la localisation. Enfin, la granulométrie n'a pas évolué dans le filtre FS mais un léger enrichissement en limon au centre et aval du filtre FR a été observé (passant de 1,7 à 4,7 % entre T0 et T2).

Ainsi, en profondeur, le sable évolue bien moins selon le temps et l'espace contrairement au sable de surface. D'autres auteurs ont également rapporté que les valeurs les plus élevées en carbone organique et CEC étaient en surface d'OGEP (Boivin et al., 2008 ; Paus et al., 2014 ; Tedoldi et al., 2017). La majorité des processus de rétention ont donc lieu en **surface** des deux FPR, impactant alors faiblement la couche de sable profond. Les valeurs globalement plus élevées dans le sable profond dans FR par rapport à FS (excepté l'azote total) à chaque pas de temps, s'expliquent par l'influence du RC sus-jacent.

Pour conclure sur l'évolution physico-chimique de ces 3 substrats et du sédiment, le sable de surface est donc celui ayant le plus évolué dans le temps et s'étant le plus différencié selon la localisation dans les deux filtres. Cela est bien visible sur l'Annexe 3-2, l'ACP montre des valeurs en carbonates, carbone organique, azote, CEC et limons plus élevées en amont de ces FPR par rapport à l'aval. Dans le filtre FR, les différences de ce substrat entre l'amont et le centre étaient moins importantes que dans le filtre FS, le clustering hiérarchique (Figure 3.3) regroupait ces deux échantillons ensemble. Le sable de surface du filtre FS était caractérisé au T2 par des teneurs plus élevées en carbone organique, azote et CEC tandis que le filtre FR par des teneurs plus élevées en carbonates (en amont). Cela a eu pour conséquence leur séparation dans le clustering hiérarchique (Figure 3.3), le sable de surface de FS étant ainsi le sable le plus différencié.

Le sable profond a très peu évolué dans le temps et l'espace et les valeurs des paramètres sont restées faibles par rapport aux autres substrats. Les échantillons étaient regroupés ensemble selon l'espace, mais étaient séparés selon le filtre, révélant l'impact du RC sur la couche sous-jacente (Annexe 3-2). Le clustering hiérarchique regroupait ainsi les trois sables profonds d'un même filtre ensemble, peu importe leurs localisations (Figure 3.3), et le sable de surface de la zone aval des deux filtres était

également regroupé avec eux. Cela indique que la zone aval a été peu sollicitée par les eaux de ruissellement, limitant ses variations avec le temps.

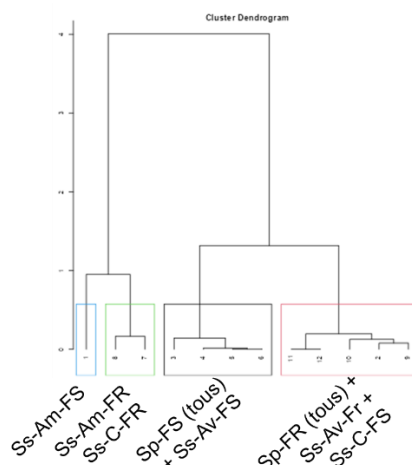


Figure 3.3 : Clustering hiérarchique obtenu à l'issue de l'ACP (Annexe 3-2), regroupant les échantillons de sable (de surface et profond) des filtres FS et FR selon leurs propriétés physico-chimiques (CaCO_3 , carbone organique, pH, CEC, pourcentages de sable et de limon). Ss : sable de surface ; Sp : sable profond. Am : amont ; C : centre ; Av : aval.

Le sédiment a peu varié avec le temps et le RC ne montrait pas de fortes tendances ni avec le temps, ni avec l'espace. A plus ou moins faible mesure, certains paramètres du RC ont augmenté avec le temps surtout dans la partie amont du filtre FR (carbonates, carbone organique, azote, CEC). Ainsi, le temps a impacté les propriétés physico-chimiques des substrats et ce de façon différente selon leur nature et les zones étudiées. C'est surtout entre les campagnes T1 et T2 que l'amplitude des changements était plus importante dans les différents substrats. Cela peut s'expliquer par le fait qu'entre les campagnes T0 et T1, l'alimentation a commencé en février, soit 5 mois après la première campagne ; les eaux de ruissellement ont donc eu moins de temps pour influencer les substrats par rapport aux campagnes T1-T2. Ainsi, après 2 ans d'alimentation, les substrats et sédiment étaient toujours caractérisés par des **propriétés significativement différentes**, liées à leur nature propre. Ils sont tous bien séparés sur l'ACP (Figure 3.4), et le sédiment était l'échantillon le plus différent des autres (le long de l'axe 1 expliquant 73,5 % de la variabilité), caractérisé par des valeurs importantes des différents paramètres, sauf le pH et le pourcentage de sable. Le sable profond était toutefois à présent différencié du sable de surface mais à plus faible mesure par rapport aux autres substrats.

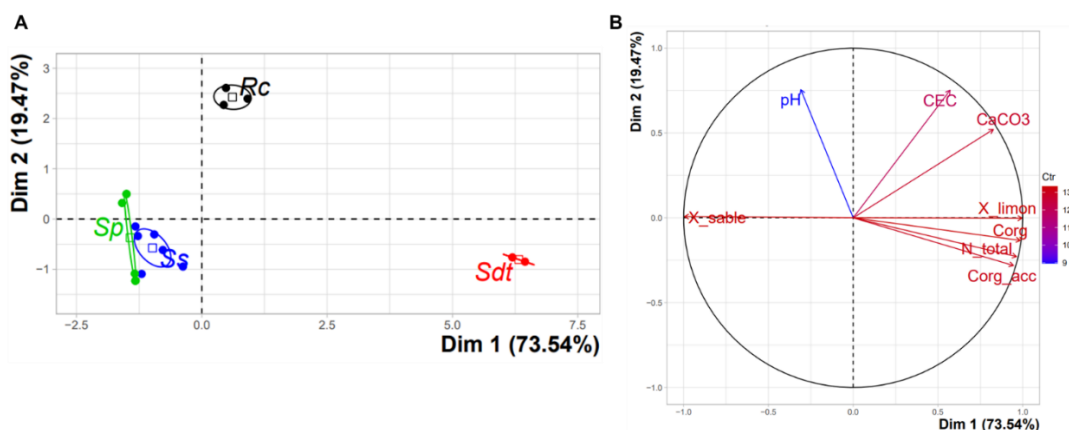


Figure 3.4 : Analyse en Composante Principale (ACP) des différents échantillons lors de la campagne T2. A : Graphique des individus : projection de la variabilité de l'ensemble des données sur une carte factorielle des deux premiers axes discriminants, regroupés selon la nature du substrat. Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond. B : Graphique des variables : cercle de corrélation des vecteurs des variables étudiées (pH, carbonates CaCO_3 , pourcentage de limon X_limon, pourcentage de sable X_sable, CEC, azote N_{total} et carbone organique Corg). Les deux premiers axes expliquent 93 % de l'inertie totale du jeu de données.

XI.1.3. Accumulation de sédiment dans le temps et l'espace

Lors des campagnes, en plus des échantillons composites, des prélèvements plus précis ont été réalisés au niveau du **sédiment** afin d'évaluer leurs **épaisseurs** et leurs teneurs en ETM. La Figure 3.5 montre les épaisseurs moyennes mesurées sur site, le long de l'axe des deux filtres donc selon l'éloignement de la zone d'arrivée d'eau. Puis, la Figure 3.6 représente les résultats de l'interpolation des épaisseurs du sédiment selon l'espace dans la zone amont des deux FPR, à partir des données mesurées. Les tranches d'épaisseur définies sont les mêmes entre les deux temps afin de pouvoir comparer visuellement les résultats. Il est important de rappeler que la campagne T2 ici n'est pas exactement la même que pour toutes les autres analyses de cette thèse. La cartographie fine du sédiment réalisée au T2 a été réalisée en avril 2023 au lieu de septembre-octobre 2022, soit environ un an et demi après la campagne T1.

Tout d'abord, les sédiments ne se sont déposés que dans la zone **amont** des deux FPR. Dans un FPR traitant les eaux de ruissellement, *Walaszek et al. (2018)* avaient également constaté une accumulation préférentielle des sédiments en amont car il s'agissait de la zone la plus sollicitée par les eaux. Concernant l'évolution temporelle, une **accumulation** significative de sédiments entre T1 et T2 a été observée (Kruskal-Wallis KW p-value < 0,0001), l'épaisseur moyenne mesurée au T2 était plus élevée que celle au T1 (2,2 contre 4,8 cm d'épaisseur en moyenne sur les points prélevés au T1 et T2 respectivement, tout filtre confondu) (Figure 3.5). Au T1, les épaisseurs variaient entre 0,2 et 12 cm pour le filtre FS et entre 0,6 et 8 cm pour le filtre FR ; au T2, ces épaisseurs variaient entre 0,8 et 9,9 cm et entre 1,1 et 9,7 cm pour les filtres FS et FR. La valeur maximale était donc plus élevée au T1 qu'au T2 pour le filtre FS. Lors de la campagne T2, il était plus difficile de prélever tout en amont des deux filtres en raison d'accumulations importantes de déchets et de végétation morte, ce qui explique que les mesures commencent quelques mètres après par rapport à la campagne T1. Cela pourrait expliquer l'épaisseur maximale plus faible au T2.

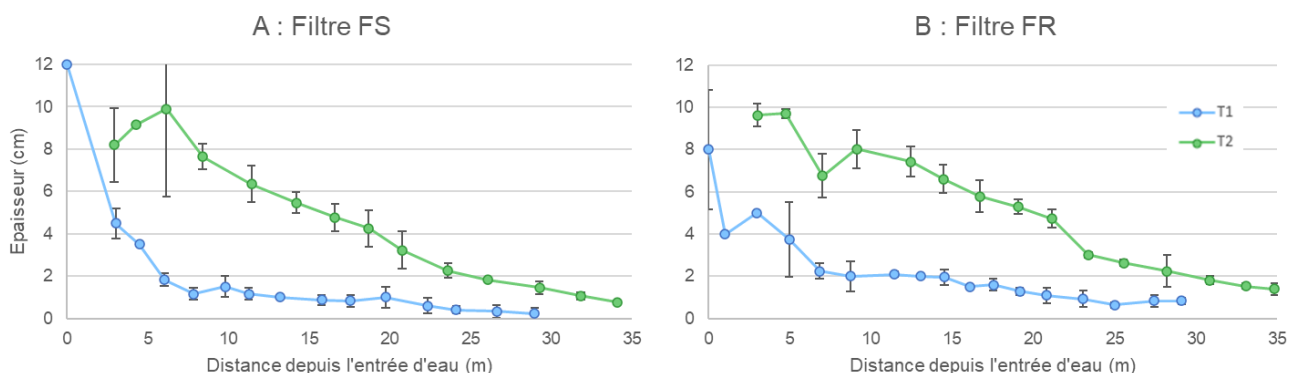


Figure 3.5 : Mesures d'épaisseurs (cm) réalisées lors de la cartographie fine du sédiment dans FS (A) et FR (B) selon la distance à la zone d'arrivée d'eau. L'épaisseur au T1 est représentée en bleu et celle au T2 en vert.

Concernant l'évolution du sédiment dans **l'espace**, au sein de la zone amont, des différences d'épaisseurs sont notables aux deux campagnes. L'accumulation de sédiment avait majoritairement lieu en amont de cette zone, dans les 5 premiers mètres puis dans les 10 premiers mètres au T1 puis T2 respectivement, suivi d'une diminution progressive des épaisseurs avec l'éloignement de l'arrivée d'eau (Figure 3.5 et Figure 3.6) (la diminution était plus exponentielle au temps T1 que T2). La zone d'arrivée d'eau est donc la zone de sédimentation préférentielle et le flaquage à la surface des FPR survient ensuite sur toute la zone amont, expliquant la présence de sédiment sur tout ce tronçon. Cependant, même si la tendance à la diminution de l'épaisseur avec l'éloignement de l'arrivée de l'eau est confirmée, la distribution n'était pas totalement homogène. En effet, au T1, un chemin préférentiel s'observait le long de la partie gauche des deux FPR, avec des épaisseurs plus élevées à ce niveau (Figure 3.6A). Il était cependant moins net au T2, même si le filtre FS semblait encore accumuler un peu plus sur son flanc gauche. De plus, la Figure 3.6B permet de constater que même si une diminution globale s'observe avec la distance, des zones plus épaisses ou moins épaisses sont tout de même présentes au sein de zones homogènes dans les 15 premiers mètres des deux filtres. Ainsi, l'eau s'écoulant en surface des FPR semble être distribuée de façon hétérogène impactant alors l'accumulation de sédiment en surface.

En **comparant les deux FPR**, le filtre FS avait tendance à présenter des zones d'accumulation fortes. En effet, les épaisseurs les plus élevées étaient retrouvées dans ce filtre, avec des valeurs allant jusqu'à 12 et 14,6 cm au T1 et T2 contre 9,5 et 10 cm au T1 et T2 dans le filtre FR (visible sur la Figure 3.6). Cependant, sur l'ensemble de la zone, l'épaisseur du sédiment du filtre FR était plus élevée sur des plus grandes distances. Par exemple, à 13 m de distance, l'épaisseur était en moyenne de 1 cm pour FS contre 2 cm pour FR au T1 (Annexe 3-3), soit deux fois plus dans ce dernier et la différence était significative (p -value < 0,01). A 29 mètres, l'épaisseur était également plus élevée pour FR au T1 (0,8 cm contre 0,2 cm pour FR et FS, p -value < 0,01). Au T2, cela était encore visible, à 14 m de distance, le sédiment était plus épais dans le filtre FR (6,6 contre 5,5 cm en moyenne pour FR et FS, p -value < 0,01) et également à 34 mètres (1,4 contre 0,8 cm pour FR et FS, p -value < 0,009) (Annexe 3-3).

Les volumes d'eau écoulés dans les FPR pour chaque campagne révèlent qu'ils ont reçu environ les mêmes volumes au T1 (30 480 contre 29 130 m³ pour FS et FR) mais qu'au T2, ils étaient 12,4 % plus importants dans FR (127 450 contre 143 240 m³ pour FS et FR). De plus, ce dernier est caractérisé par une plus faible surface totale (610 contre 680 m² dans FR et FS) et de la zone amont qui était 19 et 31 % plus faible que celle dans FS au T1 et T2 respectivement (177 contre 143 m² au T1 et 287 contre 197 m² au T2 pour FS et FR) car FR est plus étroit. Ces deux facteurs pourraient expliquer ces épaisseurs différentes entre les deux FPR.

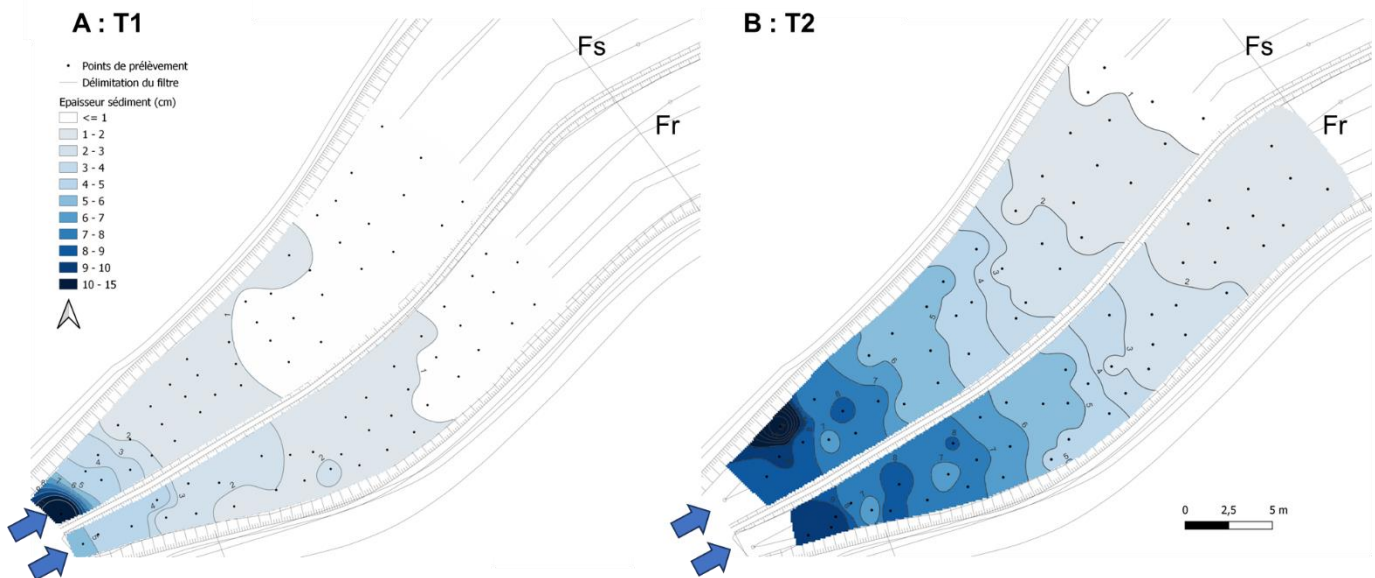


Figure 3.6 : Interpolation IDW de l'épaisseur (cm) du sédiment dans la zone amont des deux filtres, au temps T1 (A) et T2 (B). Interpolation réalisée avec un coefficient de distance de 3 (QGIS 3.26.3), les classes d'épaisseur sont discontinues. Les flèches bleues représentent la zone d'entrée d'eau.

Grâce à l'**interpolation** réalisée, il est possible d'estimer le **volume total** de sédiment accumulé dans chaque filtre ainsi que les incertitudes associées (Tableau 3.2). Tout d'abord, au T1, 2,35 et 2,43 m³ et au T2, 9,16 et 8,47 m³ de sédiment ont été estimés dans les filtres FS et FR respectivement. Les incertitudes obtenues indiquent que les volumes entre les deux filtres ne semblaient pas différents au T1 et au T2 (FS = FR), mais que les volumes entre les deux campagnes étaient différents (T2 > T1). Une accumulation de sédiment a donc eu lieu en deux ans, et entre T1 et T2, le volume était 3,9 et 3,5 fois plus élevé pour FS et FR respectivement.

Puis, la différence entre deux temps (T1-T0 et T2-T1) permet d'évaluer l'accumulation réelle de sédiment, et en divisant ce résultat par le temps entre les campagnes, sa **vitesse d'accumulation** est obtenue (m³/an). Entre le T0 et le T1, 2,14 et 2,30 m³/an et entre le T1 et T2, 4,56 et 3,93 m³/an de sédiment ont été accumulés dans FS et FR respectivement (Tableau 3.2). Alors que les vitesses d'accumulation ne semblent pas différentes entre les deux filtres, celles entre T0-T1 et T1-T2 étaient différentes. Cela s'expliquerait par la date de début d'alimentation en eaux de ruissellement dans les filtres (février 2021), date à laquelle du sédiment a commencé à s'accumuler. La campagne T0 n'est donc pas le point de départ d'accumulation de sédiment. En rapportant les résultats d'accumulation

entre T0 et T1 au temps où l'alimentation en eaux de ruissellement a réellement débuté, les valeurs seraient alors de 3,68 et 4,08 m³/an pour FS et FR. Elles sont ainsi plus proches de celles calculées entre T1 et T2 et avec les incertitudes associées, les vitesses d'accumulation ne semblaient pas différentes entre les filtres et les campagnes. L'eau d'arrosage avant la réelle alimentation n'a donc que très peu véhiculé des MES. En moyenne dans les deux filtres et deux campagnes, **4,06 m³/an** (écart-type de 0,37 m³/an) de sédiment seraient donc accumulés en un an d'alimentation. Cette vitesse d'accumulation de sédiment n'a encore jamais été étudiée dans d'autres FPR à notre connaissance.

Enfin, en rapportant ces **volumes à la surface** totale de la zone amont de chaque filtre, soit des épaisseurs moyennes (cm ou cm/an), les vitesses entre les deux FPR sont comparables puisqu'ils n'ont pas la même surface (Tableau 3.2). Entre février et T1, 2,1 et 2,9 cm/an ont été accumulés (1,2 et 1,6 cm/an en prenant le T0) et entre T1 et T2, 1,6 et 2,0 cm/an ont été accumulés dans FS et FR respectivement. Cela indique des vitesses d'accumulation relativement similaires entre les deux FPR, légèrement plus élevée dans FR. La composition de l'eau de ruissellement en MES ne semble donc pas avoir fortement changé avec le temps.

Avec environ 4 m³ de sédiment accumulé par an, un nettoyage du filtre semble nécessaire afin de limiter des épaisseurs trop importantes de sédiment en amont, qui auraient pour conséquences la diminution du volume utile de flaquage et d'obstruer la zone d'alimentation du filtre (Molle et al., 2013). Il sera alors important de définir une limite temporelle à laquelle le curage sera effectué.

Tableau 3.2 : Volume total de sédiment mesuré (m³ ou cm) et accumulé (m³/an ou m³/m²/an) dans la partie amont des filtres FS et FR, lors des campagnes T1 et T2. Les valeurs entre parenthèse sont les incertitudes calculées.

| Stockage | | Volume (m3) | Epaisseur moyenne (cm) |
|--------------|----|-----------------------------|-------------------------------------|
| T1 | FS | 2,35 (1,2) | 1,3 (0,7) |
| | FR | 2,43 (0,8) | 1,7 (0,6) |
| T2 | FS | 9,16 (1,5) | 3,2 (0,5) |
| | FR | 8,47 (1,0) | 4,3 (0,7) |
| Accumulation | | Volume (m ³ /an) | Epaisseur moyenne accumulée (cm/an) |
| T0-T1 | FS | 2,14 (1,1) | 1,2 (0,6) |
| | FR | 2,30 (0,8) | 1,6 (0,6) |
| T1-T2 | FS | 4,56 (1,8) | 1,6 (0,6) |
| | FR | 3,93 (1,2) | 2,0 (0,6) |

XI.2. Dynamique des micropolluants organiques et métalliques dans les substrats et sédiments

XI.2.1. Teneurs en éléments traces métalliques (ETM)

XI.2.1.1. Evolution des teneurs en ETM dans les différents substrats et sédiments

Au cours des trois campagnes de prélèvement, les teneurs en ETM ont été quantifiées dans les différents échantillons. Aucune répétition d'analyse n'a été réalisée, ainsi, aucun test statistique n'a pu être performé. Les résultats des teneurs sont synthétisés dans le Tableau 3.3, elles sont de l'ordre du ppm (mg/kg), et les incertitudes de mesures sont fournies dans l'Annexe 3-4.

De nombreux paramètres rendent les comparaisons entre les échantillons et le temps **complexes** si la teneur est seulement utilisée. En effet, les teneurs initiales en ETM étaient différentes selon le substrat, les deux FPR ne font pas la même surface (donc la charge appliquée n'est pas la même), les zones étaient différentes entre les filtres et entre les campagnes (puisque une évolution dynamique dans

Tableau 3.3 : Teneurs (mg/kg) en ETM dans les différents échantillons selon les trois campagnes T0, T1 et T2. Sdt : sédiment (jaune) ; Ss : sable de surface (blanc) ; Rc : Rainclean (gris) ; Sp : sable profond (blanc).

| Filtre | Echantillon | Cd (mg/kg) | | | Cr (mg/kg) | | | Cu (mg/kg) | | | Ni (mg/kg) | | | Pb (mg/kg) | | | Zn (mg/kg) | | |
|----------------|-------------|------------|-------|-------|------------|-------|-------|------------|-------|-------|------------|-------|-------|------------|-------|-------|------------|--------|--------|
| | | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 |
| FS : Sable | Sdt-Amont | | 1,52 | 1,65 | | 89,88 | 83,15 | | 656,2 | 573,5 | | 37,8 | 35,1 | | 215,3 | 222,2 | | 1418,4 | 1299,8 |
| | Ss-Amont | 0,033 | 0,140 | 0,164 | 7,65 | 13,46 | 15,84 | 3,26 | 30,45 | 50,79 | 9,62 | 13,73 | 12,41 | 5,03 | 19,14 | 21,71 | 12,9 | 84,58 | 133,76 |
| | Ss-Centre | 0,038 | 0,066 | 0,088 | 8,34 | 10,27 | 12,99 | 3,23 | 12,38 | 20,53 | 9,53 | 11,85 | 13,77 | 5,48 | 6,74 | 9,22 | 12,7 | 41,45 | 64,95 |
| | Ss-Aval | 0,036 | 0,061 | 0,077 | 9,42 | 11,79 | 12,04 | 2,93 | 11,03 | 14,67 | 10,50 | 12,78 | 14,66 | 5,05 | 9,59 | 6,92 | 12,9 | 36,37 | 46,24 |
| | Sp-Amont | 0,033 | 0,043 | 0,051 | 7,65 | 10,59 | 9,98 | 3,26 | 5,09 | 6,46 | 9,62 | 11,78 | 11,96 | 5,03 | 6,17 | 4,01 | 12,9 | 18,12 | 24,02 |
| | Sp-Centre | 0,038 | 0,042 | 0,051 | 8,34 | 10,54 | 11,36 | 3,23 | 4,83 | 6,70 | 9,53 | 12,31 | 17,25 | 5,48 | 6,07 | 5,42 | 12,7 | 16,45 | 21,19 |
| | Sp-Aval | 0,036 | 0,038 | 0,049 | 9,42 | 10,20 | 11,03 | 2,93 | 4,58 | 5,61 | 10,50 | 12,88 | 13,39 | 5,05 | 5,90 | 5,06 | 12,9 | 16,66 | 19,42 |
| FR : Rainclean | Sdt-Amont | | 1,49 | 1,77 | | 90,9 | 87,5 | | 574,4 | 558,6 | | 36,57 | 35,2 | | 204,2 | 235,6 | | 1337,0 | 1271,5 |
| | Ss-Amont | 0,037 | 0,081 | 0,127 | 5,96 | 12,47 | 14,31 | 2,44 | 20,98 | 31,90 | 7,29 | 14,59 | 13,78 | 4,23 | 10,56 | 16,29 | 10,9 | 65,53 | 96,66 |
| | Ss-Centre | 0,038 | 0,062 | 0,093 | 14,50 | 12,31 | 11,81 | 3,41 | 11,80 | 21,86 | 14,80 | 14,68 | 12,06 | 5,82 | 8,09 | 12,30 | 16,4 | 39,09 | 65,82 |
| | Ss-Aval | 0,033 | 0,044 | 0,062 | 8,73 | 8,73 | 9,21 | 3,13 | 5,76 | 12,16 | 10,10 | 9,86 | 8,58 | 4,67 | 4,94 | 6,50 | 12,4 | 20,22 | 37,74 |
| | RC-Amont | 0,098 | 0,116 | 0,202 | 26,40 | 23,68 | 28,91 | 34,20 | 41,52 | 60,81 | 48,20 | 32,17 | 36,21 | 9,00 | 10,22 | 11,84 | 81,9 | 79,05 | 118,4 |
| | RC-Centre | 0,116 | 0,123 | 0,178 | 28,80 | 37,78 | 36,46 | 41,60 | 43,62 | 74,00 | 37,20 | 39,76 | 47,47 | 9,93 | 11,82 | 12,44 | 86,8 | 91,24 | 112,7 |
| | RC-Aval | 0,125 | 0,131 | 0,201 | 24,00 | 36,03 | 48,16 | 47,50 | 85,14 | 114,5 | 29,80 | 39,84 | 57,14 | 9,10 | 12,53 | 18,92 | 77,9 | 94,07 | 141,5 |
| | Sp-Amont | 0,046 | 0,050 | 0,044 | 9,01 | 11,46 | 10,31 | 3,52 | 6,09 | 5,37 | 12,20 | 19,88 | 13,15 | 5,52 | 6,11 | 5,14 | 14,2 | 19,98 | 18,69 |
| | Sp-Centre | 0,046 | 0,052 | 0,050 | 9,01 | 10,99 | 13,39 | 3,52 | 5,91 | 6,35 | 12,20 | 13,86 | 14,72 | 5,52 | 10,84 | 6,31 | 14,2 | 20,87 | 18,53 |
| Sp-Aval | 0,046 | 0,052 | 0,042 | 9,01 | 10,99 | 10,20 | 3,52 | 5,91 | 4,71 | 12,20 | 13,86 | 12,39 | 5,52 | 10,84 | 5,62 | 14,2 | 20,87 | 15,53 | |

l'espace a été prise en compte) et les masses volumiques des substrats étaient très différentes (teneur exprimée par masse de solide). Ainsi, pour comprendre le rôle effectif des différents substrats dans la rétention des micropolluants, le rôle des différentes zones des filtres (amont, centre et aval) et comparer les deux filtres, il est important d'étudier l'**accumulation** des ETM et non pas juste les teneurs. Les résultats des teneurs seront tout de même discutés dans un premier temps puisque c'est l'unité la plus utilisée dans les publications.

Tout d'abord, le Rc était le substrat contenant **initialement** le plus d'ETM par rapport au sable (de surface et profond). En effet, il était 2,6 à 3,8 fois plus riche en Cd, 2 à 4,4 fois plus riche en Cr, 14 à 15,2 fois plus riche en Cu, 2,5 à 6,6 fois plus riche en Ni, 1,7 à 2,1 fois plus riche en Pb et 5,3 à 7,5 fois plus riche en Zn que le sable (Tableau 3.3). Le sable contenait peu d'ETM initialement. Les teneurs semblaient également homogènes entre les zones, surtout dans le sable.

Puis, avec le **temps**, les teneurs dans les deux FPR ont eu tendance à augmenter, mais différemment selon le solide.

Dans le **sédiment** (les deux FPR confondus), initialement absent du filtre, les teneurs ont eu tendance à stagner voire légèrement diminuer avec le temps (entre T1 et T2) pour tous les ETM sauf le Cd et Pb. Par exemple, les teneurs en Cd sont passées de 1,49-1,52 ppm au T1 à 1,65-1,77 ppm au T2, celles en Cu sont passées de 574-656 ppm à 559-573 ppm, celles en Pb sont passées de 204-215 à 222-236 ppm et celles en Zn sont passées de 1337-1418 ppm au T1 à 1272-1300 ppm au T2 (Tableau 3.3). Ainsi, les teneurs en ces six ETM étaient entre 0,87 et 1,19 fois plus élevées au T2 qu'au T1, ce qui indique un faible enrichissement en ETM avec le temps. Cela révèle que la composition des MES dans les eaux de ruissellement serait restée constante entre T0 et T2. La partie suivante présentera la cartographie des teneurs en ETM dans le sédiment et permettra d'avoir une meilleure vision de ces résultats.

Dans le **sable de surface** (les deux filtres confondus), les teneurs de tous les ETM ont eu tendance à augmenter avec le temps, dès T1 (Tableau 3.3). Par exemple, les teneurs en Zn sont passées de 10,9-16,4 ppm au T0 à 20,2-84,6 ppm au T1 à 37,7-133,8 ppm au T2 dans les deux FPR (Figure 3.7). Ainsi, après 2 ans de suivi, les teneurs en Cd étaient 1,9-5 fois plus élevées, celles en Cr étaient 0,8-2,4 fois plus élevées, celles en Cu étaient 3,9-15,6 fois plus élevées, celles en Ni étaient 0,8-1,9 fois plus élevées, celles en Pb étaient 1,4-4,3 fois plus élevées et enfin celles en Zn étaient 3,6-10,4 fois plus élevées par rapport à la campagne T0. Ces facteurs étant majoritairement supérieurs à 1, ils mettent en évidence que ce substrat a été enrichi en ETM après 2 ans d'alimentation, surtout en Zn et Cu. Le Cr et le Ni sont les seuls ETM ayant montré un faible appauvrissement avec le temps pour certains échantillons (facteur inférieur à 1). Les teneurs étaient également différentes selon la localisation horizontale, mais cela sera discuté dans lors de l'étude de l'accumulation des ETM.

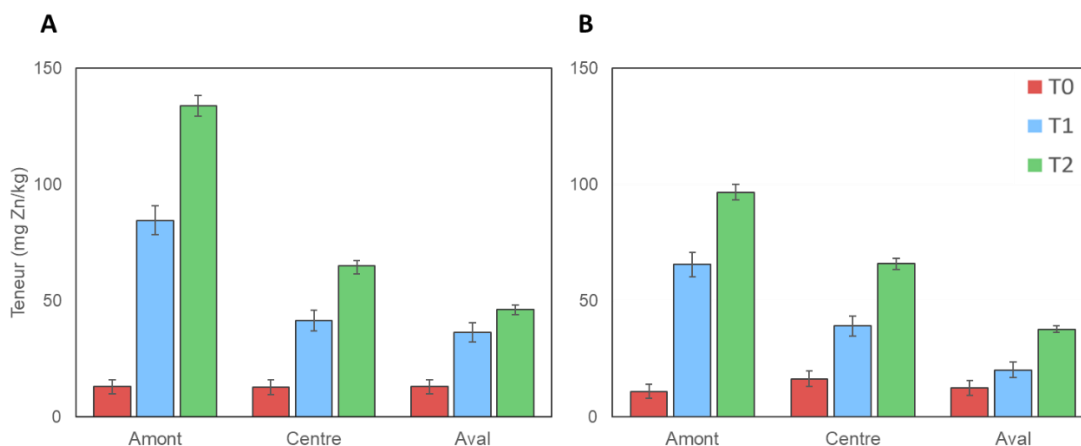


Figure 3.7 : Evolution des teneurs en Zn (mg/kg) dans le sable de surface selon les trois campagnes de prélèvement et les zones. A : filtre FS ; B : filtre FR. Les barres d'erreur représentent les incertitudes de mesure.

Concernant le **Rc**, les teneurs ont eu tendance à stagner entre T0 et T1 pour finalement augmenter entre T1 et T2. Par exemple, les teneurs en Zn sont passées de 77,9-86,8 ppm au T0 à 79,1-94,1 ppm

au T1 à 112,6-141,5 ppm au T2 (Tableau 3.3). Au temps final, les teneurs étaient alors finalement plus élevées qu'au temps initial, avec des teneurs en Cd 1,5-2,1 fois plus élevées, en Cr 1,1-2,0 fois plus élevées, en Cu 1,8-2,4 fois plus élevées, en Ni 0,8-1,9 fois plus élevées, en Pb 1,3-2,1 fois plus élevées et en Zn 1,3-1,8 fois plus élevées. Un enrichissement en ETM était donc également observé avec le temps dans le Rc, cependant, il était plus faible par rapport au sable de surface.

Enfin, dans le **sable profond** (les deux filtres confondus), peu d'évolution a eu lieu dans le temps, les teneurs sont restées faibles. Une légère augmentation des teneurs a tout de même été constatée avec le temps, par exemple les teneurs en Zn sont passées de 12,7-14,2 ppm au T0 à 16,5-20,9 ppm au T1 à entre 15,5-24,0 ppm au T2 (Tableau 3.3). Ainsi, au temps final, les teneurs en Cd étaient 0,9-1,5 fois plus élevées qu'au T0, celle en Cr étaient 1,1-1,5 fois plus élevées, celles en Cu étaient 1,3-2,1 fois plus élevées, celles en Ni étaient 1-1,8 fois plus élevées, celles en Pb étaient 0,8-1,1 fois plus élevées et celles en Zn étaient 1,1-1,9 fois plus élevées qu'au temps initial. Ces résultats révèlent que la majorité des ETM semble être retenue dans les couches sus-jacente, mais que les faibles augmentations des teneurs observées indiqueraient une faible fraction non retenue par ces couches.

Ces résultats indiquent donc une **accumulation** des ETM avec le temps dans les différents substrats des deux filtres, particulièrement dans le sable de surface (jusqu'à 15,6 fois plus d'ETM dans ce substrat par rapport à T0). L'accumulation de sédiment sur les FPR a également induit une forte augmentation de leurs teneurs globales. Ainsi, dans les différents substrats, les teneurs en ETM au T2 suivaient l'**ordre** suivant :

- Sédiment : Zn > Cu > Pb > Cr > Ni > Cd
- Sable de surface : Zn > Cu > Pb, Cr, Ni > Cd
- Rainclean : Zn > Cu > Ni, Cr > Pb > Cd
- Sable profond : Zn, Ni, Cr > Pb, Cu > Cd

En surface (sédiment et sable), le Zn était donc toujours le métal le plus concentré, suivi du Cu, et le Cd était le métal le moins concentré. Le Pb, Cr et Ni avaient ensuite des ordres de grandeur similaires dans le sable tandis que le Pb était le plus élevé dans le sédiment. Dans le Rc, le Zn puis le Cu étaient également les plus concentrés et le Cd le moins concentré, mais le Pb était moins concentré que le Ni et Cr. Enfin, dans le sable profond, les ordres de grandeur étaient différents ; le Zn, Ni et Cr avaient les valeurs les plus élevées suivi du Pb et Cu et enfin du Cd. En surface de FPR-V traitant les eaux de ruissellement, les teneurs moyennes en ETM dans les sédiments varient, dans la littérature, entre 0,9-1,1 ppm pour le Cd, entre 17-100 ppm pour le Cr, entre 13,7-124 ppm pour le Cu, entre 20,1-31,3 ppm pour le Ni, entre 10,1-260 ppm pour le Pb et entre 269-2 270 ppm pour le Zn (*Gill et al., 2014 ; 2017b ; Walaszek et al., 2018 ; Lenormand et al., 2022a*) Pour ces différentes études, le Zn était donc systématiquement le métal le plus concentré, suivi du Pb ou Cu, puis du Cr ou Ni et enfin du Cd (*Gill et al., 2014 ; Schmitt et al., 2015 ; Gill et al., 2017 ; Walaszek et al., 2018 ; Lenormand et al., 2022a*). Dans la présente étude, le sédiment avait des teneurs en ETM du même ordre de grandeur que ceux rapportés dans la littérature, excepté pour le Cu dont les teneurs étaient plus élevées que dans la littérature. Le Cd et Ni étaient légèrement plus concentrés que la littérature et le Pb se trouvait dans la tranche haute de la gamme reportée par la littérature.

Dans le sable de surface d'un FPR-V traitant des eaux de ruissellement urbaines âgé de 9 ans, (*Lenormand et al., 2022b*) ont évalué ses teneurs moyennes en ETM : 1069 ppm de Zn, 37 ppm de Pb, 35 ppm de Cu, 5 ppm de Cr et < LQ pour le Ni. Les résultats indiquent que les teneurs en Zn et Pb étaient plus élevées que dans la présente étude mais que celles en Cu, Cr et Ni étaient plus faibles. Il est important de noter que dans l'étude de *Lenormand et al. (2022b)*, un bassin de décantation était placé en amont, permettant la sédimentation des MES. Cela implique donc des concentrations plus faibles arrivant dans le FPR, pouvant justifier les teneurs plus faibles observées. Cependant, le Zn et Pb étaient les plus concentrés dans les eaux et le filtre étant âgé de 9 ans, leurs accumulations ont été plus importantes. Toutefois, le classement des ETM selon les teneurs était similaire à celui retrouvé dans la présente étude. Les auteurs ont également reporté que ce classement dans les sédiments et sable de surface des FPR était corrélé au classement des concentrations dans les eaux de ruissellement les alimentant (*Gill et al., 2017 ; Walaszek et al., 2018 ; Lenormand et al., 2022b*). Ainsi, même si les concentrations des eaux de ruissellement alimentant les deux FPR ne sont à ce jour pas

connues, les teneurs indiqueraient que le Zn serait le métal le plus concentré dans les eaux, suivi du Cu, du Pb, du Cr et Ni et enfin du Cd. Ce classement est cohérent avec les concentrations en ETM reportées dans les eaux de ruissellement de voirie urbaine en Europe (Stachel et al., 2010 ; Leroy et al., 2016 ; Flanagan et al., 2018 ; Gasperi et al., 2022) qui, en moyenne respectaient le même classement.

Le Rc ne peut pas être comparé puisqu'il n'a encore jamais été étudié dans la littérature. Toutefois l'ordre était légèrement différent, avec le Cr et Ni plus concentrés que le Pb. Dans les eaux de ruissellement de route, le Pb est généralement le métal le plus présent sous forme particulaire (99% du Pb sous forme particulaire dans l'étude de Flanagan et al., 2018). Cette spéciation induit que son processus de rétention dominant est la filtration physique par le sable en surface des filtres (Tedoldi et al., 2016). Cela expliquerait qu'il est plus faiblement retrouvé dans le Rc, qui est localisé à 10 cm de profondeur et plus fortement concentré dans le sédiment. Le sable profond est très rarement étudié, aucune étude d'un FPR-V traitant les eaux de ruissellement a été trouvée. (Tedoldi et al., 2017) ont toutefois réalisé un profil des ETM d'un bassin d'infiltration et le Cr avait également montré des teneurs supérieures au Cu et Pb en profondeur (le Ni n'ayant pas été présenté). Ces résultats du Cr et Ni plus concentrés par rapport aux autres ETM dans le Rc et sable profond indiqueraient que ces deux ETM seraient les plus présents sous forme dissoute dans les eaux de ruissellement alimentant le filtre, ou bien seraient plus mobiles. En effet, les ETM présents sous forme dissoute ne sont pas retenus uniquement par la filtration physique, mais par des processus de sorption (Tedoldi et al., 2016). Le Ni et Cr dissous traversant le sable de surface, pauvre en sites de sorption, seraient alors moins retenus et s'accumuleraient préférentiellement dans les zones plus profondes (Rc et sable profond). Le Ni était entre 4 et 23 % présent sous forme dissoute dans les eaux de ruissellement de voirie (Flanagan et al., 2018), montrant des pourcentages pouvant être plus élevés que pour le Pb ou encore le Zn et Cu (5 et 8 % respectivement). Les données de qualité des eaux de ruissellement seront nécessaires pour valider ces hypothèses car dans le massif, il n'est pas possible de connaître la forme de l'ETM.

Pour finir, teneurs en ETM étaient **les plus élevées** au T2 dans le sédiment (exemple du Zn : 1 272 à 1 300 ppm) puis dans le Rc (Zn : 118 à 141 ppm), puis dans le sable de surface (Zn : 38 à 134 ppm) et enfin dans le sable profond (Zn : 15 à 24 ppm). La littérature a révélé que les couches de surface sont le plus souvent celles contenant les teneurs les plus élevées dans les OGEP et que les teneurs diminuaient ensuite avec la profondeur. Dans les FPR-V, la différence de teneurs était la plus importante entre le sédiment et le sable de surface (Schmitt et al., 2015, Walaszek et al., 2018, Lenormand et al. 2022a). Dans d'autres types d'OGEP, la littérature a montré que les dix premiers cm du massif filtrant étaient généralement ceux ayant les teneurs les plus élevées, suivie d'une diminution rapide des ETM avec la profondeur (Johnson et Hunt, 2016 ; Al-Ameri et al., 2018 ; Kluge et al., 2018 ; Flanagan et al., 2019b ; Venvik, 2019 ; Costello et al., 2020). Dans le filtre FS, la même tendance était observée, le sédiment était bien plus contaminé que le sable de surface, puis une diminution avait lieu avec la profondeur. Ces observations sont liées à la nature essentiellement particulaire des ETM dans les eaux de ruissellement. Les MES composées de ETM et/ou ayant adsorbées des ETM dissous sédimentent puis sont filtrées par le sable dès leur arrivée dans le filtre, permettant l'accumulation de sédiment riche en ETM au-dessus et au sein du sable de surface (entre les grains), expliquant alors les teneurs plus élevées en surface (Tedoldi et al., 2016). Dans les sols d'OGEP, les ETM dissous sont également adsorbés dès qu'ils traversent le sol, induisant leur accumulation en surface. Cependant, les FPR ne sont pas composés de sol mais de sable, plus inerte et pauvre en sites de sorption. Les ETM dissous seraient ainsi faiblement adsorbés dans ce substrat, expliquant leur plus forte présence en profondeur. Dans le filtre FR en revanche, le profil vertical des ETM ne suivait pas cette diminution constante, les teneurs étaient plus élevées dans le sédiment puis entre 10 et 30 cm de profondeur, correspondant au Rc. La nature du substrat, naturellement plus riche en ETM que le sable initialement explique ces résultats. Les teneurs dans les échantillons ne suffisent donc pas.

La partie XI.2.2 permettra de comparer l'accumulation des ETM dans le temps selon la localisation horizontale et verticale dans les deux FPR, avec des unités permettant ces comparaisons.

XI.2.1.2. Cartographie des ETM dans les sédiments des deux filtres

Lors des campagnes, en plus des échantillons composites, des prélèvements plus précis ont été réalisés au niveau du **sédiment** afin d'évaluer leurs épaisseurs et leurs **teneurs** en ETM (donc uniquement dans la zone amont des deux filtres). Il s'agit donc des mêmes échantillons que ceux utilisés dans le XI.1.3 (volume de sédiment). Cela a permis d'étudier plus finement l'évolution du sédiment dans le temps et l'espace. La Figure 3.8 représente les résultats de **l'interpolation** des teneurs en ETM dans le sédiment, lors des campagnes T1 et T2. Trois ETM ont été représentés, le cuivre, le plomb et le zinc. Le Tableau 3.4 représente les valeurs moyennes des teneurs **mesurées** dans les deux filtres selon les deux campagnes.

Tableau 3.4 : Teneurs moyennes (écart-type) en Pb, Zn et Cu dans les deux filtres lors des campagnes T1 et T2, en séparant ou regroupant les données des deux filtres.

| | Cu (mg/kg) | Pb (mg/kg) | Zn (mg/kg) |
|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| FS-T1 | 718 (82,1) | 240 (33,1) | 1621 (172) |
| FS-T2 | 586 (116) | 236 (47,6) | 1367 (244) |
| FR-T1 | 580 (109) | 192 (49,0) | 1333 (249) |
| FR-T2 | 504 (76) | 227 (36,1) | 1223 (169) |

En prenant en compte les moyennes globales des deux filtres, mesurées à chaque campagne (tous les points de prélèvement regroupés), les **ordres de grandeur** dans le sédiment des deux FPR s'échelonnent de la manière suivante : Zn (1479 et 1290 ppm au T1 et T2) > Cu (649,8 et 541,9 ppm au T1 et T2) > Pb (216,4 et 231,2 ppm au T1 et T2) (Tableau 3.4). Cela est cohérent avec les teneurs mesurées dans les échantillons de sédiment composites (Tableau 3.3). Si les **deux FPR sont comparés**, les tests statistiques ont révélé que le sédiment du filtre FS présentait des teneurs moyennes plus élevées que le filtre FR, au T1 (p-values < 10⁻⁵) pour les trois ETM et au T2 pour le Zn et Cu (p-values < 0,0012). Cela est visible sur la Figure 3.8, où plus de zones à fortes teneurs sont observées par rapport au filtre FR.

Avec le **temps**, il est plus visible avec ces échantillons que les teneurs ont significativement évolué. Au T2, le filtre FR était en moyenne plus riche en Pb (192 contre 227 ppm au T1 et T2, p-value = 0,0017) mais moins riche en Zn (1333 contre 1223 ppm au T1 et T2, p-value = 0,016) et Cu (580 contre 504 ppm au T1 et T2 p-value = 0,0013). Le filtre FS au T2 était, en moyenne moins riche en Zn (1621 contre 1367 ppm au T1 et T2, p-value = 10⁻⁷) et Cu (718 contre 586 ppm au T1 et T2, p-value = 10⁻⁷), et aucune différence significative n'a été montrée pour le Pb (240 contre 236 ppm au T1 et T2, p-value = 0,67). Même si les teneurs étaient du même ordre de grandeur, les résultats révèlent que le Zn et Cu ont eu tendance à **diminuer** dans le temps contrairement au Pb qui n'a pas été affecté. Ces variations pourraient s'expliquer par des concentrations fluctuantes selon les événements pluvieux. Cependant, le fonctionnement particulier de l'ouvrage semble plutôt expliquer ces observations. En effet, l'alimentation des FPR en **eaux claires** (eaux de nappes non contaminées) par temps sec représentait lors des prélèvements du sédiment 61 et 68 % du volume total d'eaux ayant circulé dans FS et FR, ce qui est un volume important (Annexe 2-2). Par temps sec, ces eaux non contaminées alimentent donc les FPR par le même tuyau en amont, et sollicitent essentiellement cette zone et faiblement la zone centre en raison de volumes de bâchées plus faibles (pas de sollicitation de la zone aval). La circulation de ces eaux induirait alors une **remobilisation** des ETM colloïdaux et/ou dissous dans la zone amont par des processus de lessivages et/ou lixiviation, expliquant cette diminution des ETM, sauf du Pb, le moins mobile et le plus particulaire (Log Kd entre 4,18-4,67, soit le plus élevée des ETM étudiés, *Sansalone et al., 1996*). Les différences de teneurs entre les deux FPR s'expliquent alors également pour cette raison ; le filtre FR a reçu plus d'eaux claires induisant une remobilisation plus forte, donc des teneurs significativement plus faibles.

La **distribution horizontale** des ETM dans le sédiment en amont des deux filtres était similaire pour le Zn, Pb et Cu, les zones à teneurs élevées et faibles étaient équivalentes dans l'ensemble. En effet, les coefficients de corrélation de Spearman des trois ETM entre eux selon les campagnes (T1 puis T2) étaient significatifs et compris entre 0,89 et 0,97 au T1 (p-values < 10⁻⁵), et entre 0,84 et 0,96 au T2 (p-values < 10⁻⁵). La corrélation la plus élevée était celle entre le Zn et le Cu. Cela indique une distribution homogène des trois ETM dans la couche de sédiment. En revanche, ces

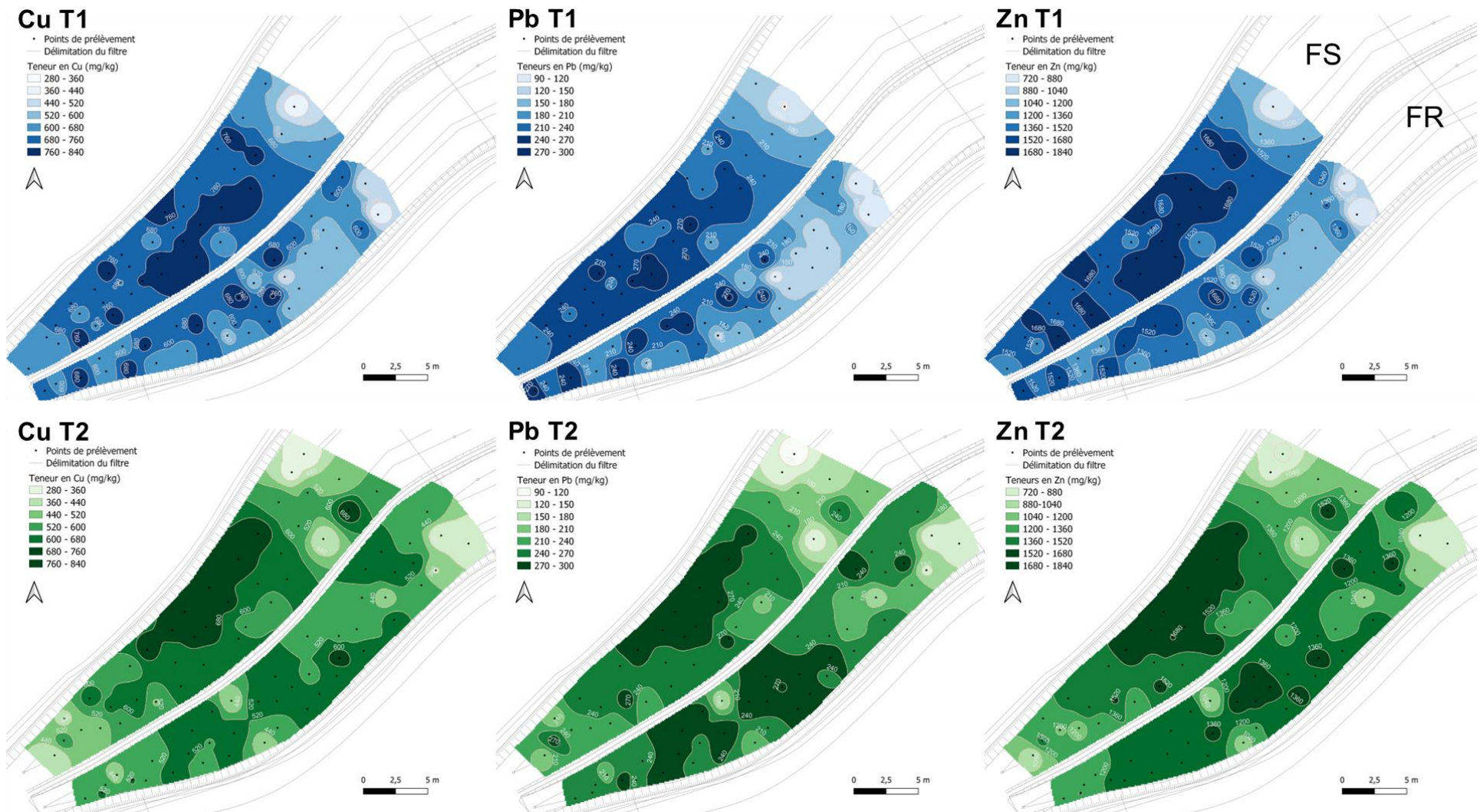


Figure 3.8 : Cartographie des teneurs (mg/kg) en ETM (Cu, Pb et Zn) dans le sédiment en amont du filtre FS et FR, lors des campagnes T1 (en haut) et T2 (en bas). Le nombre de classes a été défini mathématiquement. Les valeurs des classes changent selon l'ETM, mais restent similaires entre les deux campagnes. Les points noirs correspondent aux points de prélèvement.

teneurs ne suivaient pas la tendance de l'épaisseur du sédiment. En effet, là où une diminution significative et nette avec l'éloignement de la zone d'alimentation en eau était révélée pour l'épaisseur (Figure 3.6), les teneurs ne diminuaient pas de façon aussi linéaire (Figure 3.8). Les coefficients de corrélation de Spearman entre l'épaisseur et les trois ETM dans chaque filtre étaient alors compris entre -0,05 et 0,21 au T1 et entre 0,01 et 0,35 au T2. La corrélation du Pb au T2 était la seule significative (0,35, p-value < 0,03) mais restait très faible. Cela révèle donc que les teneurs en ETM n'étaient pas liées aux épaisseurs de la couche de sédiment, et donc qu'elles ne suivaient pas la tendance de la diminution avec l'éloignement de la zone d'alimentation en eau. Cela indique une homogénéité des teneurs en ETM dans le sédiment selon cet axe.

Ainsi, contrairement à de nombreuses études (Schmitt et al., 2015 ; Tedoldi et al., 2017 ; Gill et al., 2017 ; Al-Ameri et al., 2018 ; Venvik, 2019 ; Venvik et Boogaard, 2020 ; Costello et al., 2020 ; Lenormand et al., 2022b), la zone d'entrée d'eau (les premiers mètres du filtre) ne correspondait pas à la zone ayant les teneurs les plus élevées (alors que les épaisseurs étaient les plus élevées). En effet, lors des deux campagnes, c'était plutôt à partir de cinq mètres de distance du point d'entrée d'eau que les teneurs commençaient à être plus élevées, pour les trois ETM (Figure 3.6). Le débit d'eau important au niveau de l'entrée des FPR, impliquant alors une zone turbulente pourrait expliquer ces résultats, notamment par le passage des eaux claires qui sollicite plus cette zone. Les teneurs étaient ainsi hétérogènes au sein de la zone amont des deux FPR, et il n'y avait pas de corrélation avec la distance du point d'alimentation en eau. Cependant, en aval de la zone amont, les teneurs en ces trois ETM étaient plus faibles que dans les autres parties de cette zone, montrant une diminution des teneurs avec la distance uniquement dans cette partie. Cela peut s'expliquer par le prélèvement de particules de sable en raison de l'épaisseur de plus en plus faible du sédiment (Figure 3.5). Une autre observation sur ces cartes est la présence de chemins préférentiels, impactant alors les teneurs en ETM. Dans le filtre FS, les teneurs étaient les plus élevées dans la zone centrale de la partie amont au T1 tandis qu'au T2, les teneurs étaient plus élevées le long de la rive gauche du filtre, dans sa partie centrale (couleur foncée). Sur la Figure 3.6, les épaisseurs étaient également plus élevées sur la rive gauche, ce qui pourrait expliquer ces résultats : le chemin préférentiel qui s'est développé creuse le sédiment donc l'eau ne circule plus sur la partie gauche de cette zone. Le lessivage/lixiviation sont alors limités dans cette zone plus épaisse et induisent donc des teneurs plus élevées. Dans le filtre FR, les teneurs étaient au T1 globalement plus élevées sur sa rive gauche, et les épaisseurs étaient également légèrement plus élevées dans cette zone (Figure 3.6). Cependant, au T2, il n'y avait pas de chemin préférentiel d'observable.

Ainsi, ces résultats indiquent que les teneurs en ETM n'étaient pas corrélées avec l'épaisseur de sédiment (absence de diminution des teneurs avec l'épaisseur et teneurs plus faibles dans les premiers mètres) et une tendance à la diminution des teneurs a été montrée pour le Zn et Cu entre T1 et T2. En réalisant une cartographie plus fine du sédiment, des hétérogénéités ont tout de même été révélées, attribuables au fonctionnement particulier de l'ouvrage (chemins préférentiels et forte sollicitation des premiers mètres des FPR) et à des prélèvements précis plus complexes en aval (particules de sable). Les eaux claires **impactent** donc les processus de rétention d'ETM dans les deux FPR.

XI.2.2. Bilan de l'accumulation des ETM dans les deux filtres

● *Un enrichissement en ETM hétérogène selon la localisation horizontale et verticale*

Tout d'abord, les teneurs en ETM des différents échantillons ont été rapportées en masse, puis en divisant ces masses par le volume de l'échantillon associé, les teneurs volumiques sont obtenues (g/m^3) (cf X-1.2.1). Cela a permis de réaliser pour **chaque campagne et échantillon un bilan des ETM** dans les deux FPR, dont les résultats sont présentés dans l'Annexe 3-5. Cette unité permet de s'affranchir des masses volumiques et des volumes différents entre les échantillons. De plus, il est important de rappeler que dans cette partie, le sable profond du filtre FS a été subdivisé en un sable moyen et profond afin de pouvoir évaluer le rôle du Rc (cf. X-1.2.1).

A partir de ces valeurs bilan pour chaque campagne, le facteur d'enrichissement de chaque échantillon a pu être calculé entre la première et la dernière campagne, défini par le rapport des teneurs volumiques au T2 avec celles au T0 (Tableau 3.5). Le **sable de surface** est le substrat dont l'enrichissement en ETM en 2 ans a été le plus important, seuls le Cr et Ni du filtre FR dans les zones centre et aval ont été appauvris (facteur < 1), sinon tous les autres étaient enrichi avec le temps.

L'enrichissement était particulièrement important dans la zone amont ; par exemple, le Cu était enrichi de 12,3-15,0 fois en amont, tandis qu'il était enrichi 6,1 fois au centre et 3,7-4,8 fois en aval, selon le filtre. Ainsi, le Cd, Cu, Pb et Zn étaient les ETM montrant le plus de différences d'enrichissement entre les trois zones dans le sable de surface (facteurs en amont compris entre 3,2 et 15,0 pour ces 4 ETM). Ces résultats s'expliquent par la filtration physique des eaux par le sable de surface. La nature essentiellement particulaire de ces ETM dans les eaux de ruissellement urbain (Flanagan et al., 2018 ; Du et al., 2019 ; Lange et al., 2022) implique leur rétention dès leur arrivée dans les FPR, expliquant alors l'enrichissement plus important en amont, zone d'arrivée de l'eau et de sédimentation (Schmitt et al., 2015 ; Johnson et Hunt, 2016 ; Tedoldi et al., 2017 ; Gill et al., 2017 ; Al-Ameri et al., 2018 ; Venvik et Boogaard, 2020 ; Costello et al., 2020 ; Lenormand et al., 2022b).

Le Cr et Ni ont montré moins de différences selon les zones (facteur d'enrichissement du Ni entre 1,2 et 1,4 dans FS et entre 0,8 et 1,8 dans FR par exemple) et l'enrichissement en amont était bien plus faible que pour les autres ETM (facteurs en amont compris entre 1,2 et 2,3 pour ces 2 ETM). Des publications ont révélé qu'ils étaient plus présents en phase dissoute que les autres ETM dans le ruissellement de voiries (Flanagan et al., 2018 ; Lindfors et al., 2021) et d'autres qu'il était l'un des ETM les plus mobiles dans les sol (Huang et al., 2017). La moindre rétention du Cr et Ni dans le sable de surface, qui présente peu de sites de sorption (Tableau 3.1), peut alors être attribuée à une fraction dissoute plus élevée de ces ETM dans les eaux de ruissellement de la présente étude ainsi qu'à une mobilité plus forte dans les FPR. Enfin, en amont, les facteurs d'enrichissement des ETM plus particuliers semblent plus importants dans FS que FR (15 contre 12,3 pour le Cu, 10 contre 8,4 pour le Zn et 4,2 contre 3,6 pour le Pb entre FS et FR).

Tableau 3.5 : Facteurs d'enrichissements en ETM calculés entre T2 et T0 dans les différents échantillons. En jaune les facteurs inférieur ou égal à 1.

| FS | Facteur d'enrichissement entre T0 et T2 | | | | | | FR | Facteur d'enrichissement entre T0 et T2 | | | | | |
|--------------|---|-----|------|-----|-----|------|--------------|---|-----|------|-----|-----|-----|
| | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
| Ss-Am | 4,8 | 2,0 | 15,0 | 1,2 | 4,2 | 10,0 | Ss-Am | 3,2 | 2,3 | 12,3 | 1,8 | 3,6 | 8,4 |
| Sm-Am | 1,5 | 1,3 | 2,0 | 1,2 | 0,8 | 1,8 | Rc-Am | 2,6 | 1,4 | 2,2 | 0,9 | 1,6 | 1,8 |
| Sp-Am | 1,5 | 1,3 | 2,0 | 1,2 | 0,8 | 1,8 | Sp-Am | 0,9 | 1,1 | 1,5 | 1,1 | 0,9 | 1,3 |
| Ss-C | 2,2 | 1,5 | 6,1 | 1,4 | 1,6 | 4,9 | Ss-C | 2,3 | 0,8 | 6,1 | 0,8 | 2,0 | 3,8 |
| Sm-C | 1,3 | 1,3 | 2,0 | 1,8 | 1,0 | 1,6 | Rc-C | 1,9 | 1,6 | 2,2 | 1,6 | 1,6 | 1,6 |
| Sp-C | 1,3 | 1,3 | 2,0 | 1,8 | 1,0 | 1,6 | Sp-C | 1,1 | 1,5 | 1,8 | 1,2 | 1,1 | 1,3 |
| Ss-Av | 2,1 | 1,2 | 4,8 | 1,3 | 1,3 | 3,4 | Ss-Av | 1,8 | 1,0 | 3,7 | 0,8 | 1,3 | 2,9 |
| Sm-Av | 1,3 | 1,2 | 1,9 | 1,3 | 1,0 | 1,5 | Rc-Av | 2,0 | 2,5 | 3,0 | 2,4 | 2,6 | 2,3 |
| Sp-Av | 1,3 | 1,2 | 1,9 | 1,3 | 1,0 | 1,5 | Sp-Av | 0,9 | 1,1 | 1,3 | 1,0 | 1,0 | 1,1 |

Concernant le **Rc** dans le filtre FR, l'enrichissement en ETM était plus faible que celui du sable de surface au-dessus (facteurs entre 0,9 et 2,6) mais supérieur à 1, excepté le Ni dans la zone amont. Cela indique que le sédiment et le sable de surface ont retenus une grande partie des ETM et qu'une plus faible fraction était tout de même retenue après 10 cm. Ces résultats permettent également de mettre en lumière le fait que les ETM ont eu tendance à plutôt être stockés dans la partie aval de FR. En effet, mis à part le Cd (facteur de 2,6, 1,9 et 2,0 en amont, centre et aval), l'enrichissement dans le Rc était toujours le plus élevé en aval qu'en amont : 2,5 contre 1,4 pour le Cr, 3,0 contre 2,2 pour le Cu, 2,4 contre 0,9 pour le Ni, 2,6 contre 1,6 pour le Pb et 2,3 contre 1,8 pour le Zn entre l'aval et l'amont (Tableau 3.5). La relation aval > centre > amont était particulièrement vrai pour le Cr et Ni, sinon c'était plutôt la relation aval > centre et amont.

Ces résultats suggèrent une tendance inverse du Rc par rapport au sable de surface, donc que le rôle du Rc serait plus important en aval du filtre. Cependant, la présence des eaux claires induit une autre hypothèse, celle de la remobilisation des ETM dissous ou colloïdaux plus mobiles de la zone amont lors du passage des eaux claires (56 % des volumes totaux infiltrés en moyenne) par temps sec. Cette zone étant bien plus sollicitée que le centre puis que l'aval, les eaux claires induiraient plus de lessivage et

lixiviation contrairement à l'aval. Cela indiquerait que le sable était moins impacté par ces processus de remobilisation que le Rc.

L'utilisation de matériaux adsorbants est récente dans la littérature (*Crafton et al., 2019 ; Abedi et Mojiri, 2019 ; Kalmykova et al., 2014 ; Huang et al., 2017*) et leurs études passent surtout par l'évaluation de leurs efficacités épuratoires, pas par leur accumulation en ETM. De plus, dans ces études le Zn et Ni étaient plus transportés vers les couches plus profondes que le Cu et Pb ce qui révélait qu'ils étaient moins bien retenus et que le Ni était le métal le plus mobile. Nos observations sont donc cohérentes avec leurs observations. Cependant, aucune étude de la variabilité horizontale de la contamination d'un matériau adsorbant n'a été entreprise à ce jour, c'est donc la première fois que cette observation des enrichissements plus importants en aval est faite.

Pour le **sable moyen** du filtre FS, l'enrichissement avec le temps était également plus faible que le sable de surface (facteurs entre 0,8 et 2,0) mais était supérieur à 1 pour tous les ETM sauf le Pb (entre 0,8 et 1), montrant encore que le sédiment et le sable de surface n'ont pas retenus tous les ETM, excepté le Pb qui semble bien retenu dans les couches sus-jacentes. Cependant, l'enrichissement était légèrement plus faible que dans le Rc qui correspond à la même profondeur dans le filtre FR. En effet, aucun facteur n'a dépassé 2 alors que dans le Rc, il pouvait aller jusqu'à 3. Cela confirmerait que le Rc retient mieux les ETM dissous qu'un sable classique qui lui retiendrait plutôt les colloïdes dans cette partie du FPR (sable moyen). Enfin, ce substrat n'a montré que très peu de différences entre les zones, le Zn était le métal présentant le plus de différences, qui restaient faibles (facteurs de 1,8 en amont, 1,6 au centre et 1,5 en aval).

Enfin, le **sable profond** (il s'agit des mêmes valeurs obtenues que pour le sable moyen dans FS puisque les masses sont rapportées aux volumes), est le substrat ayant montré le moins d'enrichissement en deux ans dans les deux FPR. Dans le filtre FR, les facteurs variaient entre 0,9 et 1,8 (la majorité étant inférieure à 1,5) et le Cu était le métal le plus enrichi (1,3 à 1,8). Ces observations étaient similaires dans un FPR-V traitant des eaux de ruissellement urbaines (*Walaszek et al., 2018*) où le sable profond était très peu concentré en ETM après 4 et 5 ans d'alimentation.

Ces résultats indiquent une faible migration des ETM en profondeur, mais qu'une légère fraction n'est toujours pas retenue après le passage de l'eau dans le sable de surface et le Rc, semblant être retenue dans le sable profond. Les données de qualité des eaux en entrée et sortie n'étant pas disponibles à ce jour, il n'est pas possible de savoir si tous les ETM sont retenus dans les FPR ou si certains sortent du système par lessivage, lixiviation ou non rétention. Cela sera fait par la suite, et permettra de montrer d'une part si tous les ETM sont retenus dans les FPR et d'autre part si une réelle différence a lieu entre les deux filtres, liée à la présence du Rc. De plus, les volumes d'eaux de ruissellement ayant circulé dans chaque filtre étant différents, il s'agit d'un facteur pouvant influencer les valeurs d'enrichissement.

Pour finir, *Lenormand et al. (2022b)* calculé les facteurs d'enrichissement en ETM après 9 ans d'alimentation en eaux de ruissellement urbaines (bassin versant résidentiel) dans un FPR-V à différentes profondeurs (0-5 cm, 10-15 cm et 20-25 cm). Les facteurs étaient plus importants en surface qu'en profondeur pour tous les ETM, le Cr et Ni étaient les ETM les moins enrichis (facteur de 1,0 à 1,6 pour le Cr et de 0,97 à 1,5 pour le Ni) et le Zn puis Cu étaient les plus enrichis (1,23 à 95,15 pour le Zn et 1,59 à 11,44 pour le Cu). Les résultats de la présente étude sont donc cohérents avec ces observations. En extrapolant les facteurs d'enrichissement calculés en 2 ans d'alimentation à 9 ans, les résultats obtenus (Annexe 3-6) indiquent que le Cr, Ni et Cu seraient plus enrichis dans les différentes couches des FPR par rapport à cette publication, l'enrichissement en Pb serait du même ordre de grandeur et le Zn serait bien moins enrichi. Ces différences peuvent être directement reliées à la différence de volume et de composition des eaux de ruissellement en ETM entre les deux études, en raison de bassins versants captés distincts.

Afin d'évaluer l'accumulation effective ayant eu lieu dans le temps et l'espace, les **vitesse d'accumulation** en ETM ont été calculées à partir du bilan par campagne. Les calculs ont été effectués par échantillon mais aussi par substrat, zone et filtre, en rapportant les masses accumulées aux volumes associés (accumulation volumique, g/m³/an) afin de comparer chaque échantillon et chaque substrat,

et en les rapportant aux surfaces associées (accumulation surfacique, g/m²/an) afin de comparer chaque zone et FPR (cf. X-1.2.1). Ces résultats sont présentés en Annexe 3-7 pour chaque échantillon puis pour les regroupement horizontaux ou verticaux. De plus, les accumulations d'ETM ont été calculées entre T0 et T1, T1 et T2, et T0 et T2. Malgré le début effectif de l'alimentation en eaux de ruissellement à partir de février 2021, l'accumulation a été calculée pour toute l'année, car des différences de teneurs étaient observées dans l'espace au T0 (Tableau 3.3), indiquant que les eaux d'arrosage utilisées avant le début de l'alimentation contenaient des ETM (mais très peu de MES, cf. XI.1.3). Ainsi, les vitesses d'accumulation entre T1 et T2 sont considérées comme plus précises, intégrant une année complète d'alimentation en eaux de ruissellement, et seront utilisées pour les comparaisons ultérieures. Les Figure 3.9 et Figure 3.10 représentent l'**accumulation volumique** (g/m³/an) par substrat (donc évolution verticale) et l'**accumulation surfacique** (g/m²/an) par zone (donc évolution horizontale) entre T1 et T2. Les échantillons ont été regroupés selon leur nature de substrat ou leur localisation dans le filtre (données issues de l'Annexe 3-7) et sont comparés par unité de volume et de surface respectivement.

- *Vitesses d'accumulation des ETM selon la localisation verticale*

Premièrement, comme pour les teneurs, les résultats indiquent qu'à volume égal, le **sédiment** n'a que très peu accumulé d'ETM entre T1 et T2 dans les deux FPR (Figure 3.9). Seul le Cd (entre 0,007 et 0,17 g/m³/an) et le Pb (entre 3,9 et 19,3 g/m³/an) ont été accumulés dans ce solide. Le Zn a été le plus appauvri avec entre -40 et -68 g/m³/an suivi du Cu avec entre -10 et -48 g/m³/an. Ces résultats indiquent une composition homogène des eaux de ruissellement avec le temps, mais confirment également la remobilisation d'ETM les plus mobiles dans cette couche. Le sédiment de FR semblait accumuler plus d'ETM que le filtre FS. Ces résultats pourront être reliés aux masses d'ETM ayant été véhiculés par les eaux de ruissellement dans chaque FPR. En revanche, en termes de stocks, l'augmentation du volume de sédiment avec le temps a induit une forte augmentation des ETM stockés, et donc accumulés entre T0 et T2. Ainsi, au T2, la contribution du sédiment à l'accumulation totale d'ETM dans chaque FPR en deux ans d'alimentation était importante comparée à son volume ; bien qu'il ne représente qu'entre 2,6 (FS) et 2,8 (FR) % du volume total des FPR au T2, 50-52 % du Pb, 32-38 % du Cu, 36-40 % du Cd, 34-38 % du Zn, 21-24 % du Cr et 9-10 % du Ni étaient accumulés dans ce solide, indiquant une forte contamination dans cette fine couche (à titre de comparaison, volume de 24,2 % pour le sable de surface et profond, 48,4 % pour le Rc et sable moyen) et une répartition homogène entre les deux FPR. Le Cr et Ni étaient moins accumulés dans le sédiment ce qui permet de conclure sur le fait qu'ils sont peu présents dans les MES des eaux. Cela souligne le rôle primordial du sédiment sur l'accumulation d'ETM particulières (Cd, Cu, Pb, Zn) dans les FPR par l'accumulation de matières grâce à la sédimentation et filtration des eaux par le sable. Cela facilite l'entretien du filtre, un curage du sédiment suffit à retirer une grande partie des ETM. Cependant, le sédiment est la couche la plus accessible donc un risque non négligeable peut exister si ce FPR est ouvert au public (LeFevre et al., 2012 ; Woods Ballard et al., 2015) ce qui est le cas.

Les résultats obtenus mettent ensuite en évidence que le **sable de surface** était la couche accumulant le plus d'ETM dans le filtre **FS** en un an d'alimentation (Figure 3.9), les valeurs d'accumulation étaient toutes positives. Le Cd était toutefois plus accumulé dans le sédiment et le Ni était plus accumulé dans les couches sous-jacentes : 4,1 fois plus d'accumulation volumique du Ni dans le sable moyen et profond par rapport à celui de surface. Pour les autres ETM, l'accumulation volumique était 2,5 fois plus élevée pour le Cd, 2 fois pour le Cr, 7,5 fois pour le Cu et 5,5 fois plus élevée pour le Zn dans le sable de surface par rapport au sable sous-jacent (le plomb étant appauvri dans la couche sous-jacente il n'est pas possible de calculer ce facteur). La contribution du sable de surface à l'accumulation totale des ETM entre T0 et T2 était alors de 42 % pour le Cd, 35 % pour le Cr, 46 % pour le Cu, 19 % pour le Ni, 48 % pour le Pb et 48 % pour le Zn, soit plus d'un tiers du Cd, Cu et la moitié du Pb et Zn retenus dans cette couche de 10 cm d'épaisseur. Ces quatre ETM étaient donc fortement accumulés dans le sable de surface, lié à leur nature plus particulière.

Le **sable moyen** et **profond** avaient les mêmes valeurs d'accumulation puisque les résultats sont rapportés par unité de volume. Il s'agit des couches ayant le moins accumulé d'ETM en un an dans FS. Mis à part le Ni, l'accumulation était toujours plus faible que dans le sable de surface (Figure 3.9). De plus, le Pb dans le sable profond est le seul métal de ce FPR à avoir été appauvri en un an entre T1

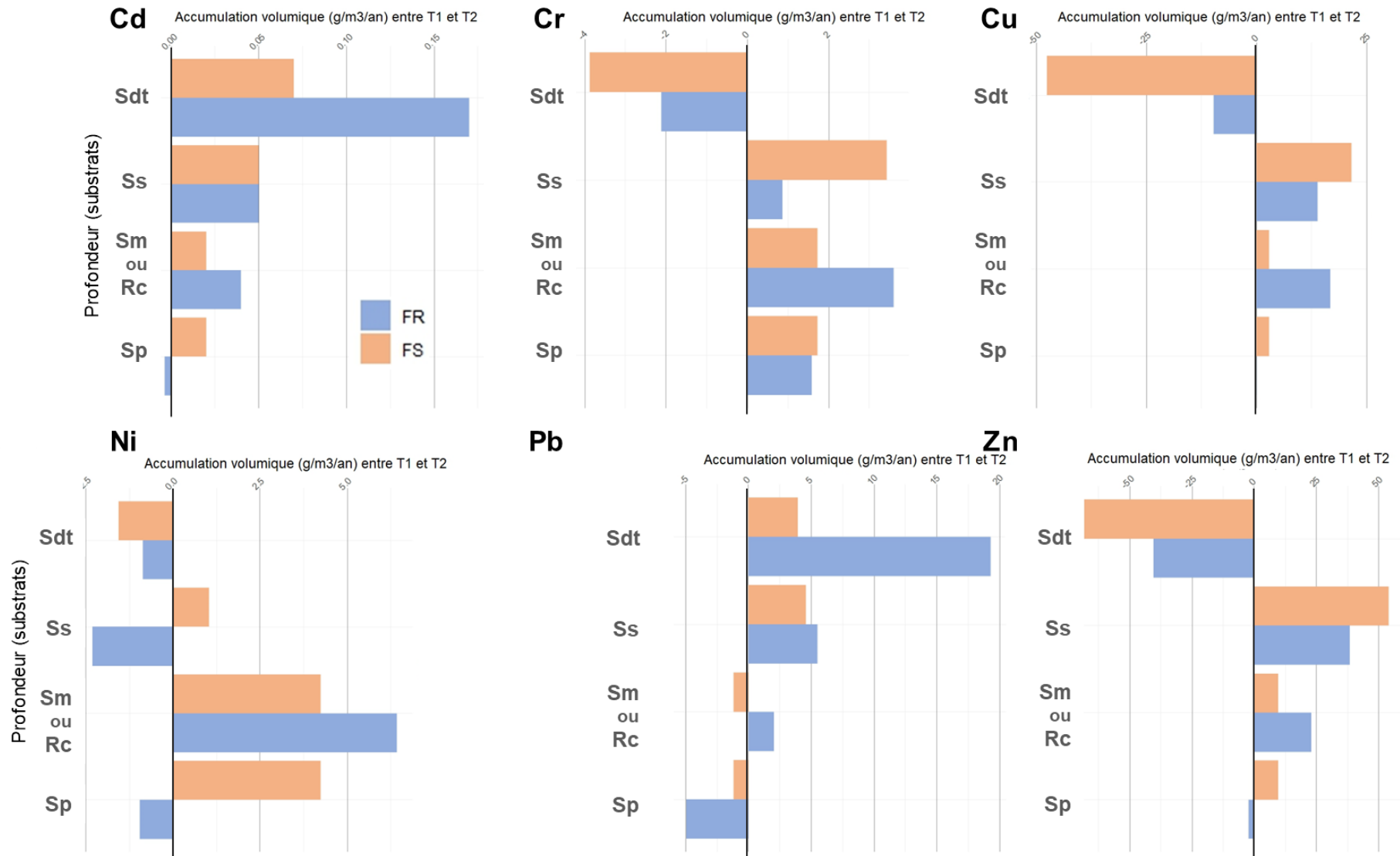


Figure 3.9 : Accumulation volumique (g/m³/an) des différents métaux entre T1 et T2, pour les différentes couches constituant les filtres FS (orange) et FR (bleu). Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Sm : sable moyen ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond.

et T2, les valeurs d'accumulation étant négatives (-1,2 g/m³/an). Une accumulation très faible dans ce substrat avait été observée entre T0 et T1 (Annexe 3-7). Il est envisageable que des particules fines contenant du Pb aient traversé le sable de surface pour légèrement s'accumuler dans les couches intermédiaires et profondes entre T0 et T1, au début du fonctionnement du filtre. Cependant, aucune accumulation supplémentaire de Pb en profondeur n'a été observée entre T1 et T2, suggérant que la totalité a été retenue plus haut mais également que le plomb initialement accumulé en profondeur a probablement été lessivé au fil du temps par les eaux claires circulant par temps sec, sous forme de colloïdes. Pour finir, la contribution de ces substrats à l'accumulation totale des ETM en deux ans était donc limitée mis à part pour le Ni et Cr. En prenant en compte le sable profond (même volume que le sable de surface donc comparable), les contributions du Cr et Ni étaient de 14 % et 24 % respectivement (seuls ETM ayant une contribution supérieure à 10 %). La contribution du Cr restait donc plus faible que pour le sable de surface. En revanche, celle du Ni était la plus élevée dans cette couche, elle était supérieure à celle du sédiment et sable de surface. Le sable moyen étant la couche la plus épaisse (20 cm), la contribution à l'accumulation totale du Ni était alors de 48 % soit plus de 70 % du Ni accumulé dans les couches profondes de FS. Les couches profondes de sable contribuent ainsi plus fortement à la rétention du Ni. Sa nature plus mobile et/ou dissoute pourrait expliquer ce résultat, même si le sable est naturellement pauvre en site de sorptions qu'il soit en surface ou en profondeur. Cela indiquerait plutôt qu'une fraction non négligeable de colloïdes s'infiltrerait dans les couches plus profondes de sable.

Le filtre **FR** n'a pas montré les mêmes tendances d'accumulation volumique entre T1 et T2 que FS. Dans le **sable de surface**, le Zn était le seul ETM ayant été le plus accumulé dans cette couche (38,3 g/m³/an), puis c'était le Pb (5,5 g/m³/an), moins accumulé que dans le sédiment mais plus que dans les couches plus profondes (Figure 3.9). Leurs accumulations volumiques étaient 2,7 fois et 1,7 fois plus élevées pour le Pb et Zn respectivement par rapport au Rc. Le Cd n'a pas montré de différence d'accumulation volumique avec le Rc (0,05 contre 0,04 g/m³/an dans le sable de surface et le Rc). En comparant l'accumulation dans le sable de surface entre les deux FPR, elle avait tendance à être plus élevée dans le filtre FS (Annexe 3-7), ce qui est l'inverse des observations faites dans le sédiment. Enfin, contrairement à FS s'étant uniquement enrichi, un appauvrissement en Ni a été observé dans le sable de surface entre T1 et T2 (-2,3 g/m³/an) et le Cr a été faiblement accumulé (0,9 g/m³/an). Le comportement du sable de surface semble donc légèrement différent dans ce filtre (valeurs plus faibles, voire négatives). Cependant, des incertitudes et statistiques sont nécessaires afin de montrer si oui ou non, les différences sont significatives. D'autres pas de temps devront être réalisés pour obtenir une meilleure estimation des vitesses d'accumulation. La contribution du sable de surface à l'accumulation totale des ETM en deux ans était donc de 25 % pour le Cd, 2 % pour le Cr, 21 % pour le Cu, 0 % pour le Ni, 25 % pour le Pb et 31 % pour le Zn. Les contributions étaient plus faibles que dans le sable de surface de FS. Cette couche contribue ainsi très faiblement à l'accumulation du Cr et Ni.

Le **Rc** a révélé de son côté une accumulation volumique plus forte que le sable de surface pour le Cr (3,6 g/m³/an), Ni (6,4 g/m³/an) et à plus faible mesure pour le Cu (16,8 g/m³/an), avec le Ni étant uniquement accumulé dans cette couche pour le filtre FR. En effet le Rc était 4,1 fois et 1,2 fois plus enrichi que dans le sable de surface pour le Cr et Cu (le facteur ne peut pas être calculé pour le Ni). L'accumulation du Cr et Ni dans le Rc était également plus élevée que dans le sable de surface de FS. Les vitesses d'accumulation volumique de ces deux ETM en un an étaient donc les plus importantes dans le ce substrat, il contribuait ainsi à 67 et 85 % de l'accumulation totale du Cr et Ni dans FR en deux ans, et 46 % du Cu était également accumulé dans cette couche. En comparaison, le sable moyen de FS contribuait à 28 et 48 % de l'accumulation totale. De plus, le Rc accumulait également plus de chaque ETM que le sable moyen de FS (Figure 3.9). Conçu pour adsorber les polluants présents dans les eaux sous forme dissoute, le Rc a montré des propriétés physico-chimiques avantageuses. Les résultats d'accumulation volumique en ETM confirmeraient une meilleure rétention locale des ETM plus dissous par ce substrat contrairement à du sable classique.

Enfin, le **sable profond** dans le filtre FR était, comme pour FS, le substrat ayant le moins accumulé d'ETM en un an (Figure 3.9). L'accumulation était négative pour tous les ETM sauf le Cr, où l'accumulation restait faible (1,6 g/m³/an), mais plus importante que dans le sable de surface (0,9 g/m³/an). Ce résultat indique que le Cr ne serait pas totalement retenu par le Rc, une partie traverserait ce substrat. Pour les autres ETM, les accumulations négatives indiqueraient des phénomènes de

lixiviation ou lessivage, remobilisant les ETM stockés entre T0 et T1, mais également que l'accumulation n'a soit pas eu lieu grâce au Rc qui les a suffisamment piégés au-dessus ou soit que les phénomènes de lessivages et/ ou lixiviation étaient supérieurs à l'accumulation. Le sable profond dans le filtre FR n'a donc pas contribué à l'accumulation totale des ETM en deux ans (moins que dans FS), sauf pour le Cr où la contribution était de 10 % (variant entre 0 et 5 % pour les autres ETM), restant tout de même très faible.

Pour conclure sur l'**accumulation par couche**, le sédiment n'accumulait pas plus d'ETM avec le temps, mais son volume étant en constante expansion, il a accumulé une quantité importante d'ETM après deux ans. Le Pb était notamment l'ETM le plus accumulé dans le sédiment pour les deux FPR après deux ans. Le sable de surface était le substrat ayant accumulé le plus de Cd, Cu, Pb et Zn par unité de volume en un an. A l'inverse, le sable profond était la couche montrant systématiquement le moins d'accumulation volumique pour les différents ETM à l'exception du Ni et Cr.

Ainsi, dans le massif filtrant de FS, le profil de l'accumulation volumique annuelle en ETM a suivi une diminution avec la profondeur, avec la relation sable de surface > sable moyen et profond, sauf pour le Ni où la relation sable moyen et profond > sable de surface était observée. Ces observations sont cohérentes avec d'autres auteurs où les teneurs les plus élevées étaient observées en surface de FPR (*Schmitt et al., 2015 ; Walaszek et al., 2018 ; Lenormand et al., 2022a*) mais le Ni n'était pas étudié. *Huang et al. (2017)* ont toutefois montré que le Ni était le métal le plus transporté en profondeur en cohérence avec sa mobilité, ce qui expliquerait sa plus forte accumulation en profondeur.

Dans le massif de FR, le profil vertical d'accumulation volumique était plus différent selon l'ETM. L'accumulation volumique diminuait avec la profondeur pour le Pb, Zn et à plus faible mesure pour le Cd, avec la relation sable de surface > Rc > sable profond. Pour le Cu, la relation sable de surface et Rc > sable profond était observée et pour le Cr et Ni, la relation inverse était révélée, avec Rc > sable profond > sable de surface. Cela montre que le Rc joue un rôle sur la rétention du Cr et Ni et à plus faible mesure sur le Cd et Cu, mais pas sur le Zn et Pb. Il s'agit de la première étude d'un profil vertical de FPR ayant une couche adsorbante en son milieu, ainsi ces résultats ne peuvent pas être comparés avec la littérature. Ces résultats indiqueraient donc que le Pb et Zn seraient les plus particulaires et peu mobiles et que le Cr et Ni seraient les plus dissous et mobiles, ce qui est cohérents avec la répartition dissous/particulaire reportée par d'autres auteurs dans les eaux de ruissellement en Europe (*Flanagan et al., 2018 ; Lindfors et al., 2021*).

Enfin, l'accumulation volumique des ETM était plus faible dans le sable de surface de FR que FS. Cette observation ne peut pas être expliquée par la présence Rc car il est positionné en dessous, il faudra évaluer si ces différences se réduisent au long terme pour pouvoir conclure dessus. Une des hypothèses serait le lessivage des particules fines du sable par les eaux claires, qui ont plus circulé dans le filtre FR que FS (137 000 contre 127 000 m³), mais cela n'explique par l'observation inverse dans le sédiment.

● Vitesses d'accumulation des ETM selon la localisation horizontale

En termes **d'accumulation surfacique** maintenant, la Figure 3.10 permet de comparer l'accumulation selon les trois zones, en amont, centre et aval de la zone d'alimentation en eaux (tous les substrats regroupés par zone). Dans les **deux FPR**, la zone **amont** était celle ayant largement accumulé le plus de Cd, Cu, Pb et Zn (exemple du Zn dans FS : 25,1 4,1 et 5,8 g/m²/an en amont, centre et aval respectivement) en un an. En effet, l'accumulation surfacique en amont était 6,3-6,6 fois plus élevée pour le Cd, 3,2-6,2 fois pour le Cu, 6,1-10,5 fois pour le Pb et 6,1-6,9 fois pour le Zn que la zone la plus faiblement enrichie dans les deux FPR. Le Pb était le métal le plus fortement accumulé en amont, lié à sa nature majoritairement particulaire (*Flanagan et al., 2018*) et le Cd, Cu et Zn suivaient la même tendance (environ 6 fois plus accumulé en amont). Ces résultats confirment que la majorité de ces ETM sont présents sous forme particulaire dans les eaux de ruissellement arrivant dans le filtre.

Pour le Ni, c'est la zone **aval** qui était celle en ayant accumulé le plus (exemple dans FR : 0,4, -0,2 et 2,8 g/m²/an en amont, centre et aval), l'accumulation surfacique était alors 3,6 à 11,3 fois plus élevée en aval qu'en amont, cette dernière ne semblait donc que très peu participer sa rétention. Pour le Cr, les zones amont et aval en avaient accumulé une quantité similaire, l'aval en ayant accumulé

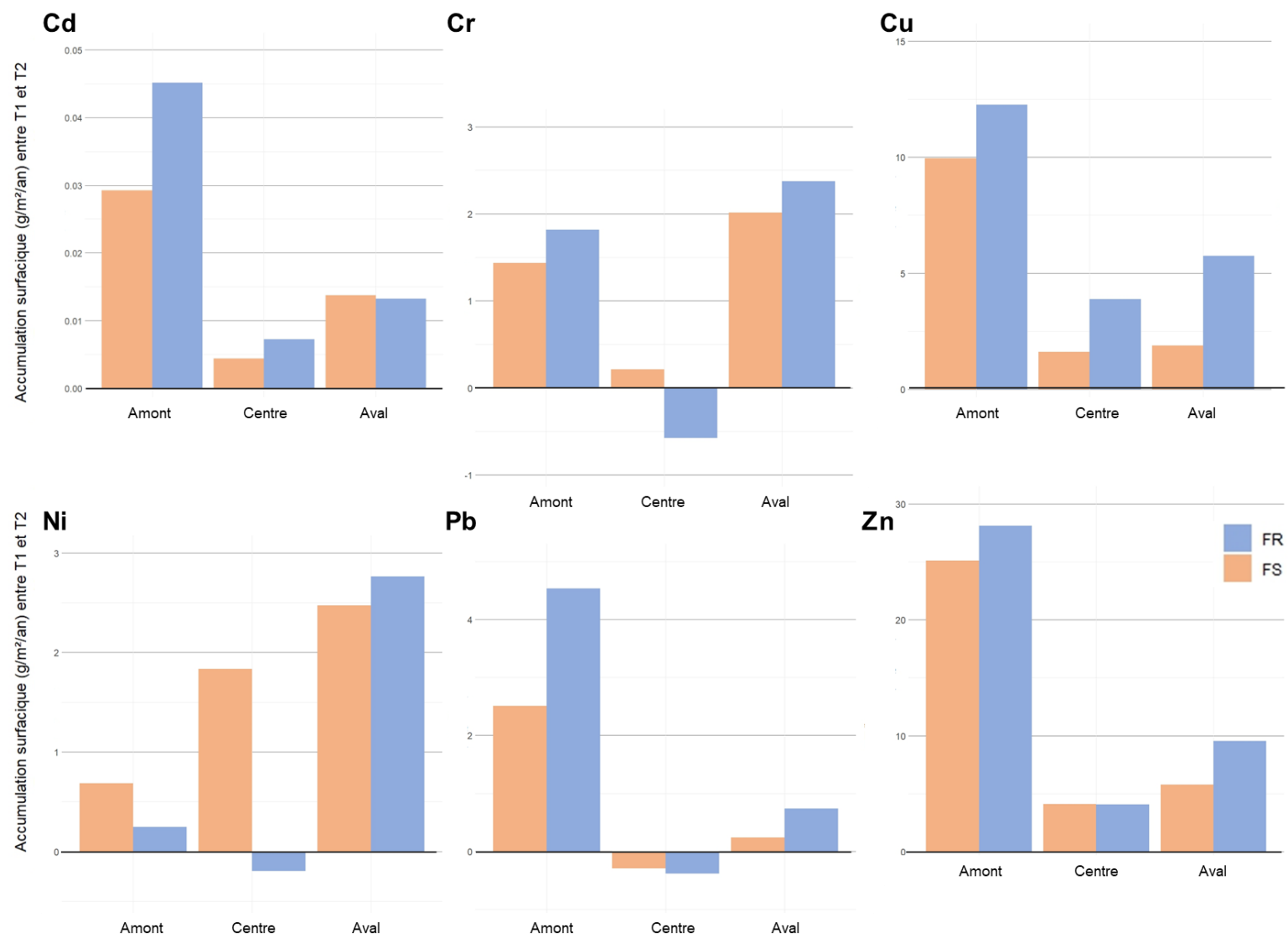


Figure 3.10 : Accumulation surfacique (g/m²/an) des différents métaux entre T1 et T2 pour les différentes zones (amont, centre et aval), qui regroupent chacune l'ensemble des substrats présents (sédiment + sable de surface + Rainclean + sable profond).

légèrement plus (1,8 contre 2,0 g/m²/an dans FS, 2,2 contre 2,4 g/m²/an dans FR en amont et aval respectivement) résultant d'une accumulation 1,3 à 1,4 fois plus importante en amont qu'en aval. Le Ni et Cr plus présents sous forme dissoute dans les eaux alimentant les FPR et donc plus **mobiles** expliqueraient que leur comportement était différent de celui du Cd, Cu, Pb et Zn selon la localisation horizontale dans les FPR. Le Cr serait plus particulaire que le Ni puisqu'une accumulation a tout de même été observée en amont. Le Ni et Cr dissout et/ou colloïdaux de la zone amont, seraient alors remobilisés par les eaux claires circulant dans les FPR car plus mobiles que les autres ETM, résultant d'une très faible accumulation surfacique dans cette zone. La zone aval, bien moins sollicitée, serait moins concernée par ce processus de remobilisation expliquant leur plus forte accumulation. De plus, le sédiment ne participant que très peu au stockage de ces deux ETM, son influence est plus faible dans la zone amont contrairement aux autres ETM.

La Figure 3.10 révèle également que la zone centre était systématiquement la zone accumulant le moins d'ETM, sauf pour le Ni dans FS. Le filtre FR a montré le moins d'accumulation dans la zone centre, les valeurs de Cr, Ni et Pb étaient même négatives. Mais les différences des accumulations entre le centre et aval étaient plus faibles qu'entre l'amont et les deux autres zones ; il faudrait avoir les incertitudes à notre disposition pour pouvoir conclure sur cette observation. Ce résultat semble contradictoire avec les observations faites par d'autres auteurs en termes de teneurs (*Tedoldi et al., 2016 ; Lenormand et al., 2022b*), où elles diminuaient continuellement avec l'éloignement de la zone d'alimentation. Ainsi, même si les teneurs mesurées ou encore le bilan de chaque campagne calculés dans les différents échantillons (Tableau 3.3 et Annexe 3-5) semblaient indiquer au T2 la relation amont > centre > aval pour les différents substrats (comme montré par d'autres auteurs), les résultats de l'accumulation surfacique impliquent des conclusions différentes, montrant l'importance du choix de l'unité généralement faite. L'hypothèse pouvant être faite est l'impact plus fort des eaux claires au centre qu'en aval, remobilisant les ETM en amont puis au centre puis en aval. Mais la zone amont recevant une forte quantité d'ETM par rapport au centre, cet effet n'était pas visible en amont (apports > remobilisation). Enfin, le filtre FR semble avoir accumulé plus d'ETM par unité de surface que FS en amont et aval.

Pour conclure sur **l'accumulation par zone**, l'observation principale est que le Cd, Cu, Pb et Zn s'accumulent largement en amont des deux FPR, cette zone représentant 44 et 35 % du volume total et contribuait à entre 74-81 % et 52-69 % de l'accumulation totale de ces ETM en deux ans pour FS et FR respectivement. L'observation contraire était révélée pour le Ni et Cr, avec plus d'accumulation en aval (Ni), ou bien similaire à l'amont (Cr). La contribution de la zone amont n'était que de 18-32 % pour le Ni dans les deux FPR et celle du Cr de 36-62 % (FS ayant plus accumulé en amont cet ETM que FR). Ces observations impliquent que les ETM piégés en amont sont de nature essentiellement particulaire (*Tedoldi et al., 2016*) mais également sont peu mobiles. Pour le Ni, *Lenormand et al. (2022b)* ont également reporté qu'il n'était pas toujours plus fortement accumulé en amont. Aucun auteur n'a cependant reporté que la zone centrale était celle accumulant le moins d'ETM par unité de surface. Le fonctionnement particulier de ce filtre pourrait expliquer cela. Enfin, le Cd, Cu, Pb et Zn sont de bons indicateurs de la localisation horizontale dans les FPR.

● Vitesses d'accumulation des ETM à l'échelle des FPR

Pour finir, l'accumulation surfacique annuelle des ETM peut être comparée sur **l'ensemble des deux filtres** (Figure 3.11).

En termes de masse accumulée (g/an), le filtre FS a accumulé en un an (entre T1 et T2) 12 g de Cd, 811 g de Cr, 3 540 g de Cu, 1 034 g de Ni, 698 g de Pb et 9 128 g de Zn. Dans le filtre FR, c'était 13 g de Cd, 834 g de Cr, 4 471 g de Cu, 684 g de Ni, 1 006 g de Pb et 8 543 g de Zn. Comme les deux FPR n'ont pas la même surface, l'accumulation surfacique permet de les comparer. En un an, elle était dans le filtre FS de 0,02 g/m² pour le Cd, 1,2 g/m² pour le Cr, 5,2 g/m² pour le Cu, 1,5 g/m² pour le Ni, 1,0 g/m² pour le Pb et 13,4 g/m² pour le Zn. Dans le filtre FR, elle était de 0,02 g/m² pour le Cd, 1,4 g/m² pour le Cr, 7,3 g/m² pour le Cu, 1,1 g/m² pour le Ni, 1,6 g/m² pour le Pb et 14,0 g/m² pour le Zn. Ces résultats montrent qu'en regroupant tous les échantillons ensemble, les différences d'accumulation étaient bien moins marquées entre les deux FPR. Le filtre FS semblait accumuler plus de Ni que le filtre FR tandis que ce dernier semblait accumuler plus de Cr, Cu, Pb et Zn après une année d'alimentation complète. Il est difficile à ce niveau d'étude de conclure sur quel filtre retient le plus les ETM puisque d'une part le filtre FR a reçu des volumes d'eau plus importants (Figure 3.11), ce qui pourrait jouer sur

l'accumulation plus importante, et d'autre part que les incertitudes ne sont pas disponibles empêchant alors de constater la variabilité des résultats obtenus. Plus d'eaux claires ont circulé également dans FR (66 contre 55 %) donc l'accumulation pourrait être plus limitée dans ce filtre. Les données de qualité d'eaux en sorties des FPR sont nécessaires pour affirmer si les ETM remobilisés sortent du système ou non pour conclure sur l'efficacité de rétention du FPR innovant. De plus, ces FPR sont encore jeunes, leur évolution avec le temps pourrait encore changer. Cependant, le Ni est le seul ETM ayant montré une tendance différente, avec plus d'accumulation dans FS. Son accumulation plus importante dans la zone centre par rapport au filtre FR expliquerait ce résultat et permettrait de conclure que pour le moment, le Rc dans le filtre FR ne permet pas une accumulation plus importante des ETM en phase dissoute à l'échelle du FPR total, même si des accumulations plus élevées ont été constatées à une échelle plus réduite. Plus de temps est alors nécessaire pour constater si ce substrat joue un rôle important dans un FPR. En effet, une diminution des sites de sorption dans les couches sus-jacentes est attendue avec le temps (*Tedoldi et al., 2020*) ce qui permettrait d'observer le rôle effectif du Rc. A ce jour, le FPR conventionnel à sable retient aussi bien les ETM que le filtre FR, **ne justifiant pas** l'utilisation du Rc dans un FPR pour le traitement des ETM dissous.

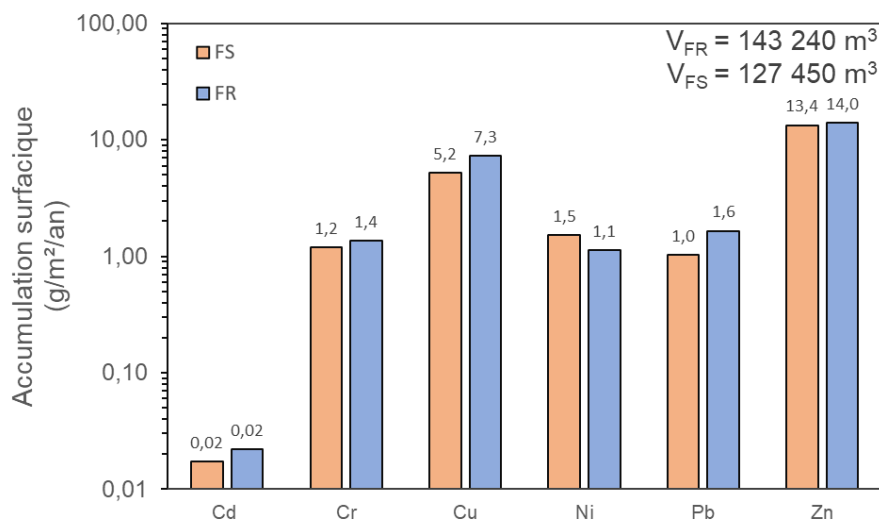


Figure 3.11 : Accumulation surfacique (g/m²/an) des différents métaux entre T1 et T2 pour l'ensemble des filtres FS (orange) et FR (bleu). Les volumes cumulés d'eau ayant alimenté chaque filtre lors de la campagne T2 sont indiqués.

L'étude de *Huang et al. (2017)* est la seule ayant évalué des vitesses d'accumulation surfacique des ETM par an dans des FPR conventionnels ou avec un matériau adsorbant (zéolithe), mais traitant des eaux usées. Les vitesses d'accumulation étaient donc différentes de celles mesurées dans la présente étude, elles étaient globalement plus faibles. Par exemple, pour le Zn elles étaient comprises entre 0,19 et 1,6 g/m²/an dans le filtre à sable, entre 2,2 et 4,8 g/m²/an dans le filtre à zéolithe et entre 13,4 et 14,0 g/m²/an dans les FPR de la présente étude. La charge en ETM des eaux usées étant plus faible que celle des eaux de ruissellement de voirie (*Huang et al., 2017*), cela expliquerait ces résultats. Cependant, ils ont tout de même reporté qu'après plusieurs années d'alimentation (toutes supérieures à 2 ans) les filtres avec zéolithe avaient des vitesses d'accumulations en Zn et Ni (et à plus faible mesure Cu et Pb) plus élevées que celui avec sable, et concluaient qu'un matériau adsorbant favorisait donc le stockage et l'accumulation des ETM dans un FPR. Plus de temps serait ainsi nécessaire au filtre FR pour que le Rc inséré puisse jouer son rôle et améliorer le stockage des ETM. Cette hypothèse pourra être vérifiée avec l'augmentation de l'âge du filtre. Cependant, si très peu d'ETM sont sous forme dissoute, le sédiment et sable de surface suffiront à les retenir et très peu d'accumulation sera observée dans le Rc.

Enfin, après **deux ans** de fonctionnement, le sédiment, suivi du sable de surface étaient les couches ayant accumulé le plus d'ETM, sauf le Cr et Ni qui étaient plus accumulés dans le sable moyen et profond et dans le Rc par rapport au sable de surface.

XI.2.3. Teneurs en micropolluants organiques (MPO)

Au cours des trois campagnes de prélèvement, les teneurs en MPO émergents ou non ont également été quantifiées dans les différents échantillons. Aucune répétition d'analyse n'a été réalisée. Les résultats des teneurs en MPO émergents sont synthétisés dans le Tableau 3.6. Les HAP et les indices HC étant majoritairement inférieurs à la LQ (sauf pour le sédiment), les teneurs sont fournies en Annexe 3-8. Seules les teneurs des indices HC totaux (C10-C40) sont présentés, dans le Tableau 3.7. Les teneurs en MPO émergents sont de l'ordre du ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$), celles en HAP sont du même ordre de grandeur, et les indices hydrocarbures sont de l'ordre du ppm (mg/kg). Les incertitudes de mesures sont fournies dans l'Annexe 3-9 et sont en moyenne de 20 %. Avant de présenter les résultats de l'accumulation, les teneurs sont discutées.

Tout d'abord, le Rc était, comme pour les ETM, **initialement** plus riche en MPO émergents par rapport au sable (de surface et profond). En effet, il était 1,1 à 1,6 fois plus riche en BPA, 2,5 à 6,8 fois plus riche en 4-OP, 1,2 à 5,3 fois plus riche en OP₁EO, 1,4 à 33,6 fois plus riche en NP₂EO et 0,4 à 2,5 fois plus riche en NP₁EO. Cependant, le sable de surface était plus riche que le Rc pour l'OP₂EO (0,4 à 2,5 fois plus riche) et le 4-NP (1,3 à 2,7 fois plus riche) (Tableau 3.6). Aucun HAP n'était détecté dans ces deux substrats initialement ($< 0,05$ ppm), mais concernant les indices HC, le Rc était également plus concentré que le sable de surface (Tableau 3.7). En effet, il était 3,1 à 3,8 fois plus riche en HC C10-C40, les HC aux chaînes allant de C12 à C35 étant les seuls supérieurs à la LQ (5 ppm) pour le sable et Rc. Il est également important de noter qu'une hétérogénéité des teneurs en MPO (émergents et indices HC) était observée dès le temps T0 contrairement aux ETM. Par exemple, le 4-NP variait entre 31,2 et 11 ppb dans le Rc et entre 18,1 et 68,7 ppb dans le sable de surface des deux FPR.

Puis, **avec le temps**, les teneurs dans les deux FPR ont fluctué, différemment selon le substrat.

Dans le **sédiment**, l'évolution n'était pas similaire selon le MPO ; certains ont augmenté entre T1 et T2, d'autres ont stagné et d'autres ont diminué. Les teneurs de OP₁EO, OP₂EO, NP₁EO, NP₂EO et BPA ont généralement stagné avec le temps, bien que le filtre FR ait montré une légère diminution. Par exemple, le BPA est passé de 516 à 577 ppb dans FS, mais de 600 à 485 ppb dans FR. Le 4-OP a diminué dans FR, passant de 330 à 244 ppb. En revanche, le 4-NP, NP₁EC (surtout FS) et 4-OP (uniquement dans FS) ont augmenté. Par exemple, au T2, le sédiment était 1,4 à 1,7 fois plus riche en 4-NP qu'au T1, passant de 2 909-3 166 ppb à 3 992-5 382 ppb. Enfin, le 4-NP, BPA et 4-OP étaient les MPO les plus concentrés. Les résultats des HAP et indices HC au T1 n'étaient pas disponibles (problèmes avec le laboratoire sous-traitant), mais au T2, aucun HAP n'a été détecté dans le filtre FS, tandis que dans FR, cinq HAP sur 16 étaient quantifiés à de faibles teneurs (pyrène, benzo(a)anthracène, benzo(a)pyrène et benzo(b)fluoranthène, soit des HAP de 4 et 5 cycles), totalisant entre 1,7 et 2,3 ppm d'HAP. Enfin, les indices HC détectés au T2 étaient les indices C16-C21, C21-C35 et C35-C40, soit les HC les plus lourds, la somme était de 87 et 3400 dans FS et FR.

L'évolution temporelle des MPO dans le **sable de surface** variait également entre les FPR. Les MPO les moins concentrés (NP₁EC, OP₁EO, OP₂EO, NP₂EO, NP₂EO) ont montré une faible évolution, les teneurs sont restées inférieures à 10 ppb lors des trois campagnes, à l'exception d'un échantillon à 11 ppb au T2 (OP₁EO). Le NP₁EC était généralement inférieur à la limite de quantification, sauf dans le sable de surface du filtre FS au T1 (1,3 ppb). En revanche le BPA, 4-OP et 4-NP ont montré plus de variations dans le temps (Tableau 3.6). Le BPA a montré une diminution suivie d'une augmentation dans le filtre FS (10-20,7 ppb au T0, $< \text{LQ}$ -5,7 au T1 et 2-22,2 ppb au T2), tandis que les teneurs ont stagné dans le filtre FR, sauf en amont (7,5, 22,0 et 19,3 ppb entre T0, T1 et T2). Le 4-OP a diminué dans les deux FPR, sauf en amont où les teneurs ont augmenté au T1 avant de revenir à des valeurs plus faibles au T2. Le 4-NP a connu des variations plus importantes, les teneurs ont initialement diminué sauf en amont (1,4 à 4,1 fois plus important au T1 en amont) puis ont toutes augmenté au T2, dépassant les valeurs initiales (1,3 à 16,2 fois plus important au T2 qu'au T1 dans toutes les zones). Enfin, les HAP n'ont jamais été détectés dans le sable de surface, mais les HC ont montré des fluctuations, diminuant entre T0 et T1 (90-390 au T0 à 5-230 ppm au T1, les HC C21-C35 et C35-C40 étant les seuls quantifiés), puis augmentant entre T1 et T2 à des teneurs proches des initiales (54 à 340 ppm, les mêmes indices

Tableau 3.6 : Teneurs ($\mu\text{g/kg}$) en micropolluants organiques émergents (alkylphénols AP et bisphénol-A BPA) dans les différents échantillons selon les trois campagnes (T0, T1 et T2). BPA : bisphénol-A ; NP1EC : nonylphénol monoéthoxylé ; 4-OP : 4-tert-octylphénol ; OP1EO : octylphénol monoéthoxylé ; OP2EO : octylphénol diéthoxylé ; 4-NP : 4-nonylphénol ; NP2EO : nonylphénol diéthoxylé ; NP1EO : nonylphénol monoéthoxylé. Sdt : sédiment (jaune) ; Ss : sable surface ; Sm : sable profond ; Rc : Rainclean (gris) ; Sp : sable profond. Am : amont ; C : centre ; Av : aval.

| Filtre | Echantillon | BPA ($\mu\text{g/kg}$) | | | NP1EC ($\mu\text{g/kg}$) | | | 4-OP ($\mu\text{g/kg}$) | | | OP1EO ($\mu\text{g/kg}$) | | | OP2EO ($\mu\text{g/kg}$) | | | 4-NP ($\mu\text{g/kg}$) | | | NP2EO ($\mu\text{g/kg}$) | | | NP1EO ($\mu\text{g/kg}$) | | |
|--------|-------------|--------------------------|-------|-------|----------------------------|-------|----|---------------------------|-------|------|----------------------------|------|-------|----------------------------|------|------|---------------------------|-------|--------|----------------------------|------|------|----------------------------|-------|------|
| | | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 |
| ES | Sdt-Am | 516,6 | 576,7 | | <1 | 107,0 | | 106,9 | 327,7 | | 15,2 | 25,1 | | 6,2 | 1,7 | | 2909 | 3992 | | 7,9 | 20,7 | | 4,7 | 7,7 | |
| | Ss-Am | 15,38 | 2,48 | 22,17 | <1 | 1,31 | <1 | 2,57 | 18,22 | 8,11 | 1,57 | 1,71 | 3,73 | <1,6 | 8,50 | <1,6 | 68,73 | 99,72 | 861,13 | <0,7 | | | 1,76 | <1,4 | <1,4 |
| | Ss-C | 20,70 | <1,9 | 14,70 | <1 | | | 11,14 | <1,6 | <1,6 | 2,23 | <1,4 | 11,03 | 4,54 | <1,6 | 4,18 | 29,34 | 4,91 | 110,36 | 7,38 | <0,7 | 2,47 | 5,09 | <1,4 | <1,4 |
| | Ss-Av | 10,05 | 5,74 | 2,02 | <1 | | | 4,50 | <1,6 | <1,6 | 1,44 | 1,41 | 8,33 | <1,6 | <1,6 | 1,58 | 23,48 | 37,41 | 30,94 | <0,7 | 7,10 | 1,20 | <1,4 | 6,31 | <1,4 |
| | Sp-Am | 15,38 | <1,9 | <1,9 | <1 | | | 2,57 | <1,6 | <1,6 | 1,57 | <1,4 | <1,4 | <1,6 | | | 68,73 | <1,7 | <1,7 | <0,7 | | | 1,76 | <1,4 | <1,4 |
| | Sp-C | 20,70 | 5,12 | <1,9 | <1 | | | 11,14 | <1,6 | <1,6 | 2,23 | 2,48 | 5,98 | 4,54 | <1,6 | <1,6 | 29,34 | <1,7 | 1,99 | 7,38 | <0,7 | <0,7 | 5,09 | <1,4 | <1,4 |
| | Sp-Av | 10,05 | <1,9 | <1,9 | <1 | | | 4,50 | <1,6 | <1,6 | 1,44 | <1,4 | 16,34 | <1,6 | | | 23,48 | 13,61 | <1,7 | <0,7 | | | <1,4 | <1,4 | 2,76 |
| FR | Sdt-Am | 600,1 | 485,2 | | 4,5 | 10,1 | | 330,4 | 243,7 | | 12,8 | 6,8 | | 36,8 | 3,2 | | 3166 | 5382 | | 14,0 | 17,4 | | 12,5 | 2,7 | |
| | Ss-Am | 7,50 | 21,97 | 19,33 | <1 | | | 6,96 | 22,70 | 4,56 | <1,4 | 2,73 | 1,59 | 3,49 | 7,48 | <1,6 | 39,97 | 163,7 | 648,9 | <0,7 | 2,75 | 1,09 | <1,4 | 1,92 | <1,4 |
| | Ss-C | 8,21 | 8,81 | 10,54 | <1 | | | 8,30 | 8,00 | 2,50 | 3,53 | 2,05 | 3,16 | 1,79 | <1,6 | <1,6 | 75,77 | 23,90 | 349,5 | 1,70 | 7,31 | <0,7 | 4,97 | <1,4 | <1,4 |
| | Ss-Av | 4,30 | 4,13 | 3,70 | <1 | | | 9,61 | <1,6 | <1,6 | 2,24 | <1,4 | <1,4 | 4,00 | <1,6 | <1,6 | 18,14 | 7,72 | 34,28 | <0,7 | <0,7 | 2,16 | <1,4 | <1,4 | 3,22 |
| | Rc-Am | 12,34 | <1,9 | 6,51 | <1 | 2,54 | <1 | 47,50 | 14,60 | 2,37 | 7,40 | 7,19 | <1,4 | <1,6 | | | 31,25 | 22,17 | 198,4 | 23,49 | 3,55 | 1,57 | 3,47 | 4,50 | <1,4 |
| | Rc-C | 10,32 | 6,16 | 4,42 | <1 | 1,66 | <1 | 20,82 | 9,09 | 3,01 | 4,28 | 6,51 | <1,4 | 4,11 | <1,6 | <1,6 | 27,62 | 9,12 | 137,3 | 3,27 | 4,40 | <0,7 | 2,05 | 10,16 | <1,4 |
| | Rc-Av | 4,74 | <1,9 | 7,92 | <1 | | | 39,94 | 1,87 | <1,6 | 5,51 | 3,32 | <1,4 | <1,6 | | | 10,97 | <1,7 | 126,2 | 1,00 | <0,7 | <0,7 | 2,19 | 1,45 | <1,4 |
| | Sp-Am | 5,50 | 14,50 | <1,9 | <1 | | | 4,92 | 1,74 | <1,6 | 2,55 | 1,62 | <1,4 | <1,6 | | | 19,43 | <1,7 | <1,7 | 2,91 | 3,67 | <0,7 | 3,36 | <1,4 | <1,4 |
| | Sp-C | 5,50 | 17,87 | <1,9 | <1 | | | 4,92 | 3,31 | <1,6 | 2,55 | 1,47 | <1,4 | <1,6 | | | 19,43 | 16,83 | 30,48 | 2,91 | 3,42 | 0,77 | 3,36 | 2,50 | <1,4 |
| | Sp-Av | 5,50 | 17,87 | <1,9 | <1 | | | 4,92 | 3,31 | 1,71 | 2,55 | 1,47 | <1,4 | <1,6 | | | 19,43 | 16,83 | <1,7 | 2,91 | 3,42 | <0,7 | 3,36 | 2,50 | <1,4 |

étant quantifiés) (Tableau 3.7). Là où les HC C12 à C35 étaient initialement présents, les HC C21 à C40 étaient finalement présents, ainsi c'étaient les chaînes les plus lourdes qui dominaient également dans ce substrat.

Tableau 3.7 : Teneurs (mg/kg) en indices HC totaux (C10-C40) dans les différents échantillons selon les trois campagnes (T0, T1 et T2). Sdt : sédiment (jaune) ; Ss : sable surface ; Sm : sable profond ; Rc : Rainclean (bleu) ; Sp : sable profond. Am : amont ; C : centre ; Av : aval.

| Filtre | Echantillon | HC C10-C40 (mg/kg) | | |
|--------|-------------|--------------------|-----|-----|
| | | T0 | T1 | T2 |
| FS | Sdt-Am | 87 | | |
| | Ss-Am | 280 | 140 | 340 |
| | Ss-C | 310 | 55 | 110 |
| | Ss-Av | 290 | 24 | 54 |
| | Sp-Am | 280 | <10 | 12 |
| | Sp-C | 310 | <10 | <10 |
| | Sp-Av | 290 | <10 | <10 |
| FR | Sdt-Am | 3400 | | |
| | Ss-Am | 390 | 230 | 230 |
| | Ss-C | 260 | 86 | 140 |
| | Ss-Av | 190 | <10 | 79 |
| | Rc-Am | 1200 | 210 | 100 |
| | Rc-C | 1000 | 120 | 36 |
| | Rc-Av | 690 | 99 | 22 |
| | Sp-Am | 220 | <10 | <10 |
| | Sp-C | 220 | <10 | <10 |
| Sp-Av | 220 | <10 | <10 | |

Dans le **Rc**, les MPO émergents ont généralement diminué au fil du temps (Tableau 3.6). Le 4-OP, l'OP1EO, l'OP2EO, le NP2EO et le NP1EO ont tous diminué entre T0-T1 et entre T1-T2. Par exemple, le 4-OP est passé de 20,8-47,5 ppb au T0 à <LQ-3,0 ppb au T2 et les autres MPO sont restés à des teneurs faibles. Le NP1EC a légèrement augmenté au T1, mais est revenu sous la limite de quantification au T2. En revanche, le BPA et le 4-NP ont montré une dynamique différente, diminuant entre T0 et T1 (11,0-31,2 au T0 contre <LQ-22,2 ppb au T1 pour le 4-NP), puis augmentant entre T1 et T2, surtout pour le 4-NP (126-198 ppb au T2 pour le 4-NP, soit 5 à 11,5 fois plus concentré au T2 qu'au T0). Le BPA restait plus faible au T2 qu'au T0. Les HAP n'ont jamais été détectés dans le Rc (< 0,05 ppm) et les indices HC, détectés initialement entre 690 et 1200 ppm au T0, ont continuellement diminué, atteignant entre 22 et 100 ppm au T2, soit 12 à 31 fois moins (Tableau 3.7). Au T2, seuls les indices HC C21-C35 (les trois échantillons de Rc) et C35-C40 (seulement celui en amont) étaient quantifiés, montrant également la présence des composés les plus lourds.

Enfin, dans le **sable profond**, la plupart des MPO émergents ont stagné entre T0 et T1 (BPA, NP1EC, OP1EO, OP2EO, NP1EO, NP2EO), à l'exception du 4-OP et du 4-NP qui ont diminué dès T1 (Tableau 3.6). Par exemple, les teneurs en BPA étaient de 5,5-20,7 ppb au T0, puis de 1,9-17,9 ppb au T1 contrairement aux teneurs en 4-NP qui sont passées de 19,43-38,7 ppb au T0 à 1,7-16,8 ppb au T1, et celles en 4-OP de 2,6-11,1 ppb au T0 à 1,6-3,3 ppb au T1. Une diminution plus marquée entre T1 et T2 a été observée pour la plupart des MPO émergents, sauf pour l'OP1EO dans le sable profond, qui a augmenté en aval du filtre FS. Les HAP n'ont également jamais été détectés dans ce substrat, et les indices HC étaient inférieurs à la LQ dès T1, indiquant une diminution des teneurs avec le temps (passant d'entre 220 et 310 ppm au T0 à < LQ aux T1 et T2).

Ainsi, ces résultats de MPO indiquent que, contrairement aux ETM, une augmentation continue avec le temps n'était pas observée donc que l'accumulation n'était pas le seul processus entrant en jeu. Il est important de rappeler le caractère **destructif** des MPO, leur dégradation est possible dans le temps (biotique et abiotique) (*Girard et al., 2011*). Le devenir des MPO est donc plus complexe à étudier en observant uniquement les teneurs, qui évaluent la contamination à un instant t. D'autant que des phénomènes de lessivage/lixiviation peuvent également survenir comme pour les ETM, mais ne peuvent être visibles que par l'évaluation de la qualité de l'eau en sortie des FPR. Dans les différents substrats, les teneurs en MPO émergents ou non au T2 suivaient l'**ordre** suivant (les HAP n'étant uniquement quantifiés dans le sédiment, ils ne sont pas inclus pour les autres substrats) :

- Sédiment : HC C10-C40 > 4-NP >> BPA, Fluo, Pyr > BbF, 4-OP > BaA, BaP > NP1EC, OP1EO, NP2EO > OP2EO, NP1EO
- Sable de surface : HC C10-C40 >> 4-NP >> BPA > 4-OP > OP1EO, OP2EO, NP1EO, NP2EO > NP1EC
- Rainclean : HC C10-C40 > 4-NP >> BPA > 4-OP > OP1EO > NP2EO, NP1EO > NP1EC, OP2EO
- Sable profond (majorité < LQ) : HC C10-C40 (tous < LQ) > 4-NP > OP1EO (filtre FS uniquement) > 4-OP, BPA, NP1EC, NP2EO, NP1EO, OP2EO.

Les HC étaient la famille de MPO la plus abondante dans tous les substrats, atteignant des niveaux de la dizaine à la centaine de mg/kg, bien supérieurs aux autres MPO de l'ordre du µg/kg. Les HC avec un indice C21-C35 dominaient toujours. Puis, le 4-NP était le MPO émergent le plus concentré dans tous les substrats, atteignant des valeurs de la centaine à milliers de µg/kg, bien au-dessus des autres MPO (valeurs plus faibles en profondeur). En effet, le BPA était le deuxième MPO émergent le plus concentré dans le sédiment, sable de surface et Rc (quelques µg/kg à la centaine de µg/kg) ; le 4-NP était alors 6,9-11,1 fois plus abondant dans le sédiment, 7,5-38,8 fois dans le sable de surface et 15,9-31 fois dans le Rc par rapport au BPA. Le fluorène et pyrène du sédiment étaient présents à des teneurs similaires au BPA (centaines de µg/kg). Le 4-OP était ensuite le plus concentré dans tous les substrats (quelques µg/kg à la centaine de µg/kg) et les teneurs en benzo(b)fluoranthène étaient du même ordre de grandeur dans le sédiment. Ainsi, ces trois MPO émergents ont montré les fluctuations et des augmentations les plus importantes dans le temps, bien qu'avec une tendance à diminuer au T1. Dans le sédiment, le benzo(a)anthracène et benzo(a)pyrène étaient ensuite les plus abondants. Enfin, le NP1EC, OP1EO, OP2EO, NP1EO et NP2EO étaient présents à des teneurs très faibles pour tous les temps, de quelques µg/kg à quelques dizaines de µg/kg, et le NP1EC était le moins présent dans les échantillons, détecté uniquement dans 12 % des cas, principalement dans le sédiment.

Les MPO ont moins été étudiés dans les FPR traitant les eaux de ruissellement par rapport aux ETM, et seuls les HAP étaient étudiés. Dans un bassin de sédimentation suivi d'un FPR-V, *Schmitt et al. (2015)* ont quantifié les 16 HAP dans le sédiment du bassin, mais toutes les teneurs étaient inférieures à la LQ dans le sable de surface du FPR-V suggérant que la majorité des HAP était localisée dans le sédiment, une observation également confirmée dans notre étude. Bien que les concentrations étaient différentes, les ordres de grandeur restaient similaires (moins d'1 mg/kg), et la relation Fluo, Pyr, BbF > BaA, BaP observée dans notre étude était cohérente avec les observations de *Schmitt et al. (2015)* et de *Walaszek et al. (2018)* et *Lenormand et al. (2022a)* dans un même contexte. Pour les MPO émergents, il faut se tourner vers d'autres OGEP pour comparer les teneurs. *Strömvall et al. (2007)* en ont mesuré dans le sédiment d'un bassin de rétention, avec l'ordre suivant : NP₁EO (5,3 mg/kg) > 4-NP (3,1 mg/kg) > NP₂EO (1,5 mg/kg) > 4-OP (0,16 mg/kg) > OP₁EO (0,051 mg/kg) > OP₂EO (0,011 mg/kg). Dans le sol d'une noue en bordure de route, *Flanagan et al. (2019b)* ont mesuré des teneurs plus faibles, avec l'ordre 4-NP (0,460 mg/kg) > NP₁EO (0,27) > 4-OP (0,058 mg/kg) > BPA (0,03 mg/kg) > NP₂EO, OP₁EO et OP₂EO (entre inférieur à la limite de quantification et 0,006 mg/kg). Ainsi, les MPO émergents les plus retrouvés dans ces OGEP étaient donc le 4-NP et le NP₁EO. La deuxième étude étant localisée dans un bassin versant plus proche de celui des FPR, les teneurs lui sont comparées. Le sédiment des deux FPR était caractérisé par des teneurs plus élevées en 4-NP (6,3 à 11,7 fois plus), 4-OP, BPA, des ordres de grandeur similaires pour les teneurs en OP₁EO, OP₂EO et NP₂EO mais était caractérisé par des valeurs bien plus faibles en NP₁EO (22 à 102 fois plus élevé dans l'étude). Cependant, le classement des teneurs était similaire entre l'étude de *Flanagan et al. (2018)* et dans les deux FPR,

avec les teneurs en 4-NP bien plus élevées que les autres, suivies du 4-OP et BPA puis des alkylphénols éthoxylés, sauf le NP1EO.

Pour comprendre ces teneurs, il faut se tourner vers les concentrations dans les eaux. Les hydrocarbures sont des polluants organiques fortement concentrés dans les eaux de ruissellement de voirie, ils sont généralement de l'ordre du mg/L (*Rozkošný et al., 2014 ; Flanagan et al., 2018*) contrairement aux AP, BPA et HAP qui sont plutôt de l'ordre du µg/L, voire ng/L (*Stachel et al., 2010 ; Bressy, 2010 ; Flanagan et al., 2018 ; Gasperi et al., 2022 ; Beryani et al., 2023*). Cela explique leur prépondérance dans les différents échantillons. Les différences de teneurs en HAP s'expliqueraient par des concentrations différentes également dans les eaux, impactant leur ordre (*Flanagan et al., 2018 ; Gasperi et al., 2022*). Le 4-NP est généralement le MPO émergent le plus concentré dans les eaux, suivi du BPA et du 4-OP puis des d'alkylphénols éthoxylés (en proportions variables selon les études) (*Stachel et al., 2010 ; Flanagan et al., 2018 ; Gasperi et al., 2022*). Ces concentrations dans les eaux de ruissellement urbain expliqueraient la relation 4-NP >> BPA > 4-OP > alkylphénols éthoxylés dans les divers substrats. De plus, le 4-NP et le 4-OP résultent de la dégradation des alkylphénols éthoxylés (*Jonkers et al., 2001 ; Corvini et al., 2006 ; Bergé, 2012*), ce qui peut entraîner une augmentation de leurs concentrations. Ainsi, bien que tous hydrophobes, ce sont surtout les concentrations dans les eaux de ruissellement qui détermineraient leurs teneurs dans les FPR. Des tendances similaires ont été observées dans les quatre substrats, indiquant qu'ils ne semblent pas favoriser la rétention préférentielle de certains MPO par rapport à d'autres.

L'indice HC C10-C40 est la seule famille étudiée présentant des teneurs élevées, celles du sable de surface dépassaient les teneurs de tous les ETM et celles du Rc étaient du même ordre de grandeur que le Zn. Lorsque les HC totaux et les ETM étaient étudiées dans de l'eau de ruissellement urbain, les HC totaux étaient généralement de l'ordre du mg/L tandis que les ETM étaient de l'ordre de la dizaine à centaine de µg/L (*Flanagan et al., 2018 ; Gasperi et al., 2022*), ce qui expliquerait leurs plus fortes teneurs dans les FPR.

Les teneurs en MPO variaient selon les substrats des FPR au T2, étant **plus élevées** dans le sédiment (exemple du 4-NP : 3 992-5 382 ppb) suivi du sable de surface (4-NP : 31-861 ppb), puis du Rc (4-NP : 126-198 ppb) et enfin du sable profond (4-NP : 1,7-30 ppb) pour les deux FPR. Des études antérieures ont également montré que la couche de sédiment de surface de FPR contenait généralement les teneurs les plus élevées en HAP (*Schmitt et al., 2015 ; Walaszek et al., 2018*), diminuant rapidement avec la profondeur (*Walaszek et al. 2018*). Dans d'autres OGEP, ces observations étaient également reportées pour les HAP (*Strömvall et al., 2007 ; DiBlasi et al., 2009 ; Napier et al., 2009 ; Bu et al., 2009 ; Yuan et al., 2023*). Les données disponibles dans la littérature concernent surtout les HAP, les MOPs émergents n'ayant que très peu été étudiés en termes de profil vertical dans un OGEP. L'étude de *Flanagan et al. (2019b)* est la seule disponible, les teneurs en AP et BPA dans une noue placée en bordure de route ont été étudiées, à différentes localisations et profondeurs. Dans la partie la plus contaminée de l'ouvrage, les teneurs en 4-NP, 4-OP et BPA étaient respectivement de 0,41, 0,015 et 0,025 mg/kg entre 0-5 cm, de 0,26, 0,008 et 0,037 mg/kg entre 5-15 cm et de 0,28, 0,018 et 0,038 entre 15 cm et le fond de l'ouvrage. Ainsi, une décroissance s'observait pour le 4-NP seulement. Dans la présente étude, les profils de BPA, 4-NP, 4-OP montraient toutefois une claire diminution des teneurs avec la profondeur.

Les profils des MPO observés peuvent s'expliquer par deux facteurs principaux. Premièrement, la nature principalement particulaire des HAP et HC (*Gasperi et al., 2014 ; Flanagan et al., 2018*) joue un rôle essentiel. Bien que la proportion de composés sous forme particulaire soit rapportée comme étant plus faible pour les AP et BPA que pour les HAP, elle reste présente (*Gasperi et al., 2014 ; Flanagan et al., 2018*), le BPA étant le plus dissous et le 4-NP le moins dissous. Deuxièmement, en raison de leur hydrophobie, ces composés s'adsorbent aux particules organiques dès l'entrée de l'eau dans le FPR, soit en surface, notamment grâce au sédiment qui favorise une zone riche en carbone organique (*Tedoldi et al., 2016*). Ces deux mécanismes expliquent l'augmentation des concentrations en surface par rapport à la profondeur au fil du temps.

En revanche, *Tedoldi et al. (2017)* ont révélé que les teneurs les plus élevées en HAP n'étaient pas toujours dans la partie la plus en surface des ouvrages ayant fonctionné pendant plusieurs années. La majorité des HAP était plutôt accumulée entre 5 et 20 cm de profondeur. Ces observations démontrent

que la sédimentation, filtration et sorption ne suffisent pas à expliquer ces valeurs, mais que d'autres processus dissipatifs entrent également en jeu. La photodégradation et la biodégradation étant favorisés en surface de sols/substrats (plus de lumière et biologiquement plus actif), cela expliquerait les plus faibles teneurs rapportées dans les premiers centimètres des ouvrages. Cette observation n'était pas visible dans les deux FPR après 2 ans de fonctionnement, ce sera peut-être le cas avec le temps, mais pour le moment, cela traduit le fait que les apports en MPO seraient supérieurs aux pertes en surface de ce système.

Enfin, pour comprendre le rôle effectif des différents substrats dans la rétention des MPO, mais également le rôle des différentes zones des FPR, il est important d'étudier, comme pour les ETM, l'**accumulation** des MPO et non pas juste les teneurs. La partie suivante traitera ce point pour les MPO émergents, et permettra de comparer l'accumulation selon la localisation horizontale et verticale dans les deux FPR.

XI.2.4. Bilan de l'accumulation des MPO émergents dans les deux filtres

● Un enrichissement en MPO émergents hétérogène selon la localisation horizontale et verticale

Comme pour les ETM, les teneurs en MPO émergents des différents échantillons ont été rapportées en masse par unité de volume de substrat afin d'obtenir les teneurs volumiques (mg/m³). Cela a permis de réaliser pour **chaque campagne** un **bilan des MPO étudiés** dans les deux FPR, dont les résultats sont présentés dans l'Annexe 3-10. Les autres MPO n'ont pas été étudiés dans cette partie puisque la majorité des échantillons avait des teneurs en HAP et indices HC inférieures à leur LQ tout au long du suivi (méthode trop peu sensible).

A partir de ce bilan, le facteur d'enrichissement de chaque échantillon a pu ensuite être calculé entre la première et la dernière campagne (rapport entre T2 et T0), les valeurs des trois MPO les plus concentrés (BPA, 4-NP, 4-OP) sont présentées sur le Tableau 3.8. Les valeurs pour l'ensemble des MPO sont fournies dans l'Annexe 3-11. Lorsque la teneur était inférieure à la LQ, la valeur de cette dernière était utilisée. Ce facteur n'a pas pu être calculé pour le sédiment puisqu'il était absent lors de la campagne initiale.

Tableau 3.8 : Facteurs d'enrichissements des MPO calculés entre T0 et T2 dans les différents échantillons. En vert les facteurs d'enrichissement supérieurs à 1, en jaune ceux inférieurs à 1.

| FS | BPA | 4-OP | 4-NP | FR | BPA | 4-OP | 4-NP |
|-------|-----|------|------|-------|-----|------|------|
| Ss-Am | 1,4 | 3,0 | 12,1 | Ss-Am | 2,4 | 0,6 | 15,3 |
| Ss-C | 0,7 | 0,1 | 3,6 | Ss-C | 1,2 | 0,3 | 4,4 |
| Ss-Av | 0,2 | 0,3 | 1,3 | Ss-Av | 0,8 | 0,2 | 1,8 |
| Sm-Am | 0,1 | 0,6 | 0,0 | Rc-Am | 0,7 | 0,1 | 7,9 |
| Sm-C | 0,1 | 0,1 | 0,1 | Rc-C | 0,5 | 0,2 | 6,2 |
| Sm-Av | 0,2 | 0,4 | 0,1 | Rc-Av | 2,1 | 0,1 | 14,4 |
| Sp-Am | 0,1 | 0,6 | 0,0 | Sp-Am | 0,3 | 0,3 | 0,1 |
| Sp-C | 0,1 | 0,1 | 0,1 | Sp-C | 0,3 | 0,3 | 1,5 |
| Sp-Av | 0,2 | 0,4 | 0,1 | Sp-Av | 0,3 | 0,3 | 0,1 |

En deux ans d'alimentation, un enrichissement pour certains MPO a été observé dans le **sable de surface**. Le 4-NP a été le MPO le plus enrichi dans tous les échantillons (28,4-118,4 mg/m³ au T0 contre 47,8-1329 mg/m³ au T2, les deux filtres confondus, Annexe 3-10), les facteurs d'enrichissements variant de 1,3 à 15,3. Le BPA a été enrichi uniquement en amont des deux filtres et au centre de FR également et le 4-OP a été uniquement enrichi en amont de FS. L'OP1EO et le NP2EO ont également montré des enrichissements spécifiques en amont, au centre, ou en aval des FPR, avec des facteurs (et des teneurs volumiques) globalement plus faibles que ceux des ETM, ils variaient entre 1,1 et 5,6 (Annexe 3-11). L'OP2EO et le NP1EO se sont s'appauvris, avec des facteurs inférieurs à 1.

Une observation importante est que l'enrichissement en MPO émergents était généralement plus prononcé en amont, similaire à la tendance des ETM. Le 4-NP, par exemple, présentait un

enrichissement bien plus marqué en amont par rapport au centre et à l'aval : enrichissement de 12,1-15,3 en amont, de 3,6-4,4 au centre et de 1,3-1,8 en aval après deux ans d'alimentation (Tableau 3.8). Cette tendance était également constatée, à plus faible mesure, pour le BPA, le 4-OP et l'OP1EO dans FR (Tableau 3.8) mais la tendance inverse pour l'OP1EO était observée dans FS. Dans un FPR, *Walaszek et al. (2018)* ont observé des teneurs plus élevées en HAP à faible poids moléculaire en amont par rapport à l'aval du sable de surface. Des tendances similaires ont été notées dans d'autres OGEP, avec une accumulation plus importante d'HAP près de la zone d'arrivée d'eau et une diminution avec l'éloignement (*Dechesne et al., 2004 ; DiBlasi et al., 2009 ; Napier et al., 2009 ; Istenič et al., 2011 ; Tedoldi et al., 2017*).

Cependant, la distribution horizontale des MPO émergents n'a pas été évaluée jusqu'à présent. Les résultats de notre étude suggèrent que les MPO émergents suivent des tendances similaires aux HAP, montrant un enrichissement plus marqué en amont du sable de surface. Les auteurs expliquent ces résultats en soulignant la nature assez particulière et surtout hydrophobe des MPO (log Kow de 3,4, 4,8 et 5,4 pour le BPA, 4-OP et 4-NP), qui s'adsorbent rapidement aux MES organiques des eaux de ruissellement. Elles sont ensuite filtrées dès leur arrivée dans les FPR, formant la couche de sédiment et enrichissant la porosité du sable. En outre, l'augmentation en carbone organique des FPR via ces MES permettrait ensuite la rétention des MPO dissous car leur adsorption augmente avec les teneurs en carbone organique (*Corrales et al., 2015 ; Soares et al., 2008*).

Entre T0 et T2, le **Rc** a montré un faible enrichissement, uniquement en BPA et en 4-NP, ce dernier étant le plus enrichi (facteur de 6,2 à 14,4, Tableau 3.8). L'enrichissement en BPA s'est produit uniquement en aval (facteur de 2,1), tandis que le 4-NP a été enrichi dans toutes les zones du Rc. Bien que les concentrations volumiques du 4-NP diminuaient avec l'éloignement de la zone d'alimentation (114,2, 79,0 et 72,7 mg/m³ en amont, centre et aval), l'enrichissement était plus prononcé en aval du Rc (facteur de 7,9, 6,2 et 14,4 en amont, centre et aval). Cela s'explique notamment par des différences initiales entre les zones à la campagne T0, plus hétérogènes que les ETM. Le Rc n'a ainsi ni montré un fort enrichissement des MPO avec le temps, ni montré de tendance marquée à être enrichi ou appauvri selon la localisation horizontale pour les MPO. Les autres MPO moins concentrés (alkylphénols éthoxylés) ont eu tendance à être inférieurs aux LQ au T2, ainsi, bien que les facteurs de l'OP2EO étaient supérieurs à 1, l'enrichissement reste très faible (Annexe 3-11).

Dans le **sable moyen** du filtre FS, très peu d'enrichissement a été observé avec le temps. Les MPO les plus concentrés, le BPA, le 4-OP et le 4-NP, ont tous montré un appauvrissement au fil du temps dans ce substrat (facteurs tous inférieurs à 1 et de nombreuses valeurs inférieures à la LQ) (Tableau 3.8). L'OP1EO et le NP1EO ont été légèrement enrichis, mais les teneurs volumiques sont restées très faibles au T2. Ces résultats suggèrent l'absence d'enrichissement global du substrat en MPO, et l'absence de relation avec la localisation horizontale. Dans le **sable profond** du filtre FR (mêmes échantillons que le sable moyen pour FS), un appauvrissement a également été noté pour tous les MPO émergents, à l'exception du 4-NP dans la partie centrale où la concentration volumique a augmenté de 1,5 fois au T2 par rapport au T0, bien que la majorité des données soient inférieures à la limite de quantification lors de la dernière campagne.

Ces résultats ont donc révélé qu'en deux ans, l'enrichissement des MPO émergents a été **moins prononcé** que celui des ETM, le facteur d'enrichissement moyen de ces derniers était entre 3,1 et 3,6 tandis que celui des MPO était de 1,4 pour les deux FPR. Il était également moins marqué dans l'espace, avec une diminution selon l'éloignement de la zone d'alimentation essentiellement observée dans le sable de surface pour la plupart des MPO. Seul le 4-NP a montré une augmentation importante des teneurs volumiques avec le temps, tandis que les autres MPO ont été appauvris ou ont montré un faible enrichissement. La nature destructive des MPO suggère ainsi une dégradation au fil du temps, pouvant être plus rapide que les apports, entraînant des pertes, ou moins rapide, provoquant des enrichissements en amont surtout. La diminution des teneurs volumiques avec le temps des MPO peut donc survenir à la suite de lessivage, lixiviation ou bien de dégradation. Des données de qualité des eaux de sortie sont nécessaires pour confirmer si les MPO sont quantifiés en sortie et donc s'ils sont lessivés ou lixiviés. Néanmoins, d'autres chercheurs ont documenté la capacité des OGEP à dégrader des MPO grâce à l'activité microbienne, notamment des HAP et des phtalates (*LeFevre, et al., 2012 ;*

LeFevre et al., 2011 ; Leroy et al., 2015 ; Zhou et al., 2005). Par conséquent, il est plausible d'émettre l'hypothèse selon laquelle la dégradation des MPO émergents dans les FPR peut survenir avec le temps, d'autant que les teneurs tendaient à être inférieures aux teneurs initiales.

Les résultats ont également révélé une diminution des teneurs volumiques des substrats entre T0 et T1, suivie d'une augmentation entre T1 et T2, dépassant pour certains MPO les valeurs initiales (Annexe 3-10). Cela suggère qu'entre T0 et T1, il y avait une prédominance des pertes par rapport aux apports, entraînant une diminution des valeurs. En revanche, entre T1 et T2, les apports semblaient surpasser les pertes, particulièrement en surface et en amont. Une explication plausible réside dans le temps de ressuyage des FPR avant les prélèvements d'échantillons (cf. Annexe 2-2). Lors du T1, un laps de 13 jours et 22 jours s'est écoulé entre la fin de l'alimentation prioritaire des FPR et le prélèvement, tandis qu'au T2, ces intervalles étaient de 4 et 3 jours pour FS et FR respectivement. La période plus étendue aurait favorisé une dégradation plus significative des composés, entraînant des teneurs plus faibles au T1 qu'au T2. Enfin, bien que l'absence d'enrichissement ait été notée dans les couches plus profondes (à partir de 10 cm de profondeur), cela ne garantit pas la rétention des MPO dans la couche sus-jacente, la dégradation pouvant avoir eu lieu avant les prélèvements (les teneurs étant plus faibles, on arrive alors à des valeurs < LQ). Des données de qualité des eaux de sortie sont essentielles pour tirer des conclusions définitives à ce sujet.

Par la suite, les **vitesse d'accumulation en MPO** ont été calculées de la même façon que pour les ETM, pour chaque échantillon, substrat, zone et filtre. Les vitesses sont données en Annexe 3-12 pour tous les MPO émergents. Ces résultats sont plus complexes à interpréter pour les MPO que les ETM puisque l'accumulation n'est pas le seul processus dominant dans les substrats, comme vu avant. Ils permettront donc surtout d'observer si une tendance à l'accumulation ou la diminution des MPO a lieu dans le temps et l'espace. Les Figure 3.12 et Figure 3.13 représentent ainsi le bilan de **l'accumulation volumique** ($\text{g/m}^3/\text{an}$) par substrat (donc évolution verticale) et de **l'accumulation surfacique** ($\text{g/m}^2/\text{an}$) par zone (donc évolution horizontale) entre T1 et T2. Les échantillons ont été regroupés selon leur nature de substrat ou leur localisation dans le FPR. Seul les MPO émergents les plus concentrés sont représentés sur les figures : le BPA, 4-OP et 4-NP.

- *Vitesse d'accumulation des MPO émergents selon la localisation verticale*

Tout d'abord, concernant **l'accumulation volumique** les résultats montrent que, contrairement aux ETM, le **sédiment** de FS a accumulé des MPO avec le temps, toutes les accumulations étaient positives excepté pour l'OP2EO, et le 4-NP, 4-OP et BPA étaient les plus accumulés (34,6, 127,1 et 623,3 $\text{mg/m}^3/\text{an}$ pour le BPA, 4-OP et 4-NP, Annexe 3-12). Cette observation était moins nette pour FR, seule une forte accumulation du 4-NP a été observée entre T1 et T2 (1 921 $\text{mg/m}^3/\text{an}$). Cette différence s'explique par le fait qu'au T1, le filtre FR était plus concentré en MPO que FS tandis qu'au T2 c'était l'inverse, sauf pour le 4-NP (Annexe 3-10). Cette accumulation dans le sédiment pourrait être liée aux variations de concentrations dans les eaux, nécessaires pour conclure. Cependant, ces observations pourraient indiquer que les MPO semblent être en partie retenus également par le passage de l'eau au travers du sédiment déjà déposé en raison de sa nature très organique (Tableau 3.1), favorisant l'adsorption rapide des MPO hydrophobes (Corrales et al., 2015 ; Soares et al., 2008) et donc leur augmentation dans le temps. L'absence d'enrichissement des ETM dans le sédiment entre T1 et T2 suggère qu'il ne contribue pas à leur rétention sous forme dissoute, malgré une CEC élevée (Tableau 3.1). Plus d'investigations sont nécessaires pour comprendre ces différences de rétention entre les micropolluants. L'adsorption des MPO émergents par le sédiment sera étudiée dans le chapitre XII -.

Le 4-NP a montré la plus grande accumulation volumique dans le sédiment et elle était 1,2 à 4,9 fois plus importante que dans le sable de surface. Dans le filtre FS, l'accumulation du BPA et 4-OP était 2 fois et 592 fois plus importante que dans le sable de surface (Figure 3.12). Notamment, le sédiment était le seul substrat ayant accumulé du 4-OP en un an d'alimentation. Ainsi, au T2, le sédiment a fortement contribué à l'accumulation totale des MPO dans chaque FPR sur deux ans d'alimentation (T0-T2), représentant entre 31-45 % de l'accumulation du 4-NP, entre 85-100 % de l'accumulation du BPA et 100 % de l'accumulation du 4-OP, malgré son faible volume (entre 2,6 et 2,8 % du volume total).

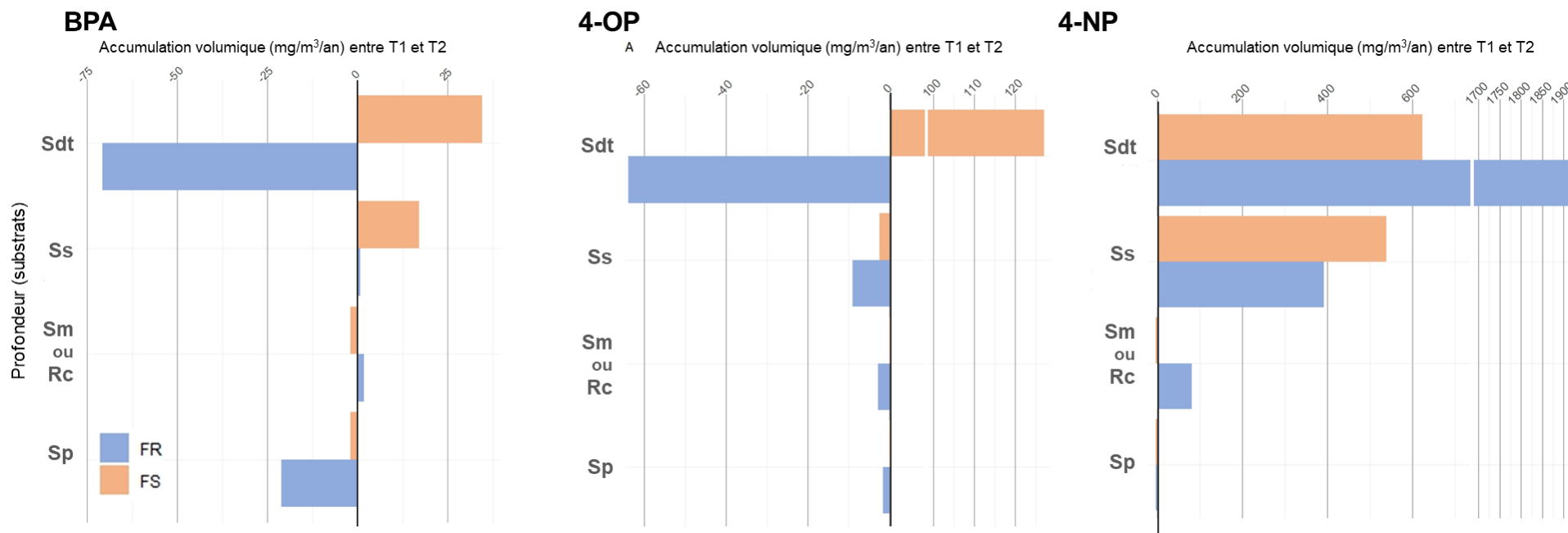


Figure 3.12 : Accumulation volumique (mg/m³/an) des différents MPO émergents les plus concentrés (BPA- 4-OP et 4-NP) entre T1 et T2, pour les différents substrats, selon le filtre FS (orange) et FR (bleu). Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Sm : sable moyen ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond. Une rupture de l'axe X a été réalisée pour le 4-OP et 4-NP pour une meilleure visibilité.

En un an, le **sable de surface** a démontré être le deuxième substrat le plus propice à l'accumulation de MPO émergents. Pendant cette période, le BPA et le 4-NP ont enregistré une accumulation positive, contrairement au 4-OP, avec des valeurs de 0,8 à 17,1 mg/m³/an pour le BPA et de 392 à 538 mg/m³/an pour le 4-NP dans les deux FPR. Le 4-NP a été le MPO le plus accumulé dans cette couche également. L'accumulation volumique était plus importante que dans les couches sous-jacentes (Figure 3.12), par exemple, le 4-NP était 4,8 fois plus accumulé par rapport au Rc dans le filtre FR. De l'OP1EO a également, à plus faible mesure, été accumulé dans FS. D'autre part, les autres MPO ont connu un appauvrissement au cours de cette période (-0,01 à -9,0 mg/m³/an). Le filtre FS semblait, à l'instar du sédiment, accumuler davantage de MPO. Le sable de surface (24 % du volume total des FPR) a ainsi contribué à l'accumulation de certains MPO, représentant, par exemple, entre 40 et 69 % du 4-NP total accumulé en deux ans. De même, le sable de FR a contribué à l'accumulation du BPA, représentant 14 % de l'accumulation totale.

Très peu d'accumulation a été observée dans le **Rc** en un an, avec seulement 81,1 mg/m³/an de 4-NP et 1,7 mg/m³/an de BPA accumulés (Figure 3.12). Cependant, ces valeurs étaient supérieures à celles observées dans le **sable moyen** de FS, où le BPA et le 4-NP ont montré des accumulations de -2 et -3,4 mg/m³/an respectivement. Les données de qualité d'eau en entrée de cette couche sont nécessaires pour conclure si une partie des MPO n'a pas été retenue par le sable contrairement au Rc ou bien si la dégradation dans le sable moyen a été plus importante que dans le Rc. Ainsi, la contribution du Rc à l'accumulation totale entre T0 et T2 est restée faible : 0,25 % du BPA et 15 % du 4-NP, malgré un volume total représentant 48,6 % du FPR. Pour les autres MPO, un appauvrissement a été observé en un an.

Enfin, le **sable profond** a montré une accumulation encore moindre. Un appauvrissement entre T1 et T2 a été constaté pour le BPA, le 4-OP et le 4-NP, à l'exception du 4-OP dans FS qui est resté constant (0,2 mg/m³/an) (Figure 3.12). Pour les alkylphénols éthoxylés, une légère accumulation a été observée pour l'OP1EO et l'OP2EO (0,04 à 7,4 mg/m³/an pour les deux FPR) (Annexe 3-12). Ces résultats suggèrent donc une migration très limitée des MPO émergents vers les couches profondes, indiquant qu'ils sont retenus par les substrats de surface ou qu'ils ont déjà subi une dégradation. En effet, avec des teneurs faibles en profondeur, les pertes surpasseraient alors les apports.

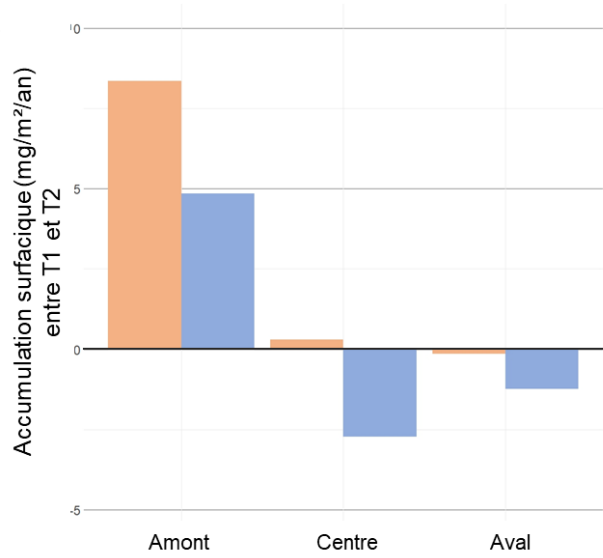
En synthèse, les résultats confirment que les MPO émergents les plus concentrés dans les eaux, tels que le BPA, le 4-OP et le 4-NP (*Stachel et al., 2010 ; Flanagan et al., 2018 ; Gasperi et al., 2022*), étaient principalement **accumulés en surface**, dans le sédiment puis dans le sable de surface ; le 4-OP était accumulé uniquement dans le sédiment de FS. Le Rc a également montré une légère accumulation de BPA et 4-NP, indiquant que bien que le sédiment et le sable de surface aient fortement contribué à leur rétention, ils n'ont pas retenu tous les composés lors de l'infiltration de l'eau ou bien ils ont été remobilisés par la suite.

Les couches profondes ont présenté une très faible accumulation des MPO, seuls quelques composés comme l'OP2EO et l'OP1EO dans les deux FPR, et le NP1EO dans le filtre FS, ont montré une accumulation plus importante en profondeur. Cependant, cela ne signifie pas que les autres MPO n'ont pas été accumulés en profondeur, mais plutôt que leur accumulation a été limitée dans ces couches (pertes > apports), probablement en raison de la dégradation des composés. Ainsi, à l'exception du sédiment de FS pour tous les MPO et du sable de surface pour le 4-NP, l'accumulation des MPO émergents dans les deux FPR est restée **faible**, avec surtout des **pertes** observées. Le profil vertical a montré une diminution des vitesses d'accumulation avec la profondeur, cohérente avec les observations d'autres auteurs pour les HAP (*Walaszek et al., 2018*). Cependant, l'absence d'évaluations antérieures sur les vitesses d'accumulation des MPO émergents dans les OGEP limite la comparaison.

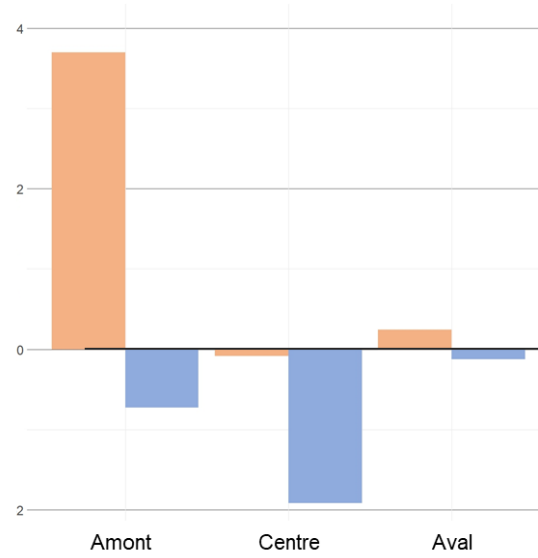
- *Vitesses d'accumulation des MPO émergents selon la localisation horizontale*

En termes **d'accumulation surfacique**, la Figure 3.13 permet maintenant de comparer l'accumulation selon les trois zones, en amont, centre et aval de la zone d'alimentation en eaux.

BPA



4-OP



4-NP



Figure 3.13 : Accumulation surfacique (mg/m²/an) des différents MPO émergents les plus concentrés (BPA, 4-OP et 4-NP) entre T1 et T2, pour les différentes zones (amont, centre et aval), qui regroupent chacune les différents substrats présents et pour le filtre FS (orange) et FR (bleu).

Dans les deux FPR, la zone **amont** a présenté les vitesses d'accumulation les plus élevées pour le BPA, le 4-OP et le 4-NP. Par exemple, dans le filtre FR, l'accumulation annuelle du 4-NP était de 210,7, 63,2 et 16,2 mg/m²/an en amont, au centre et en aval respectivement, révélant que la zone amont avait accumulé 14,7 fois plus de 4-NP que la zone aval mais également que toutes les zones avaient accumulé ce MPO (sauf l'aval dans FS). Le BPA et le 4-OP ont été principalement accumulés dans la zone amont des deux FPR (4,9-8,4 mg/m²/an pour le BPA et -0,7-3,7 mg/m²/an pour le 4-OP, le filtre FR n'ayant pas accumulé dans cette zone) mais les accumulations dans les autres zones étaient soit proches de zéro, soit négatives (Figure 3.13). Cette différence d'accumulation surfacique entre le 4-NP et le BPA/4-OP pourrait être expliquée par concentrations plus élevées en 4-NP dans les eaux de ruissellement (Gasperi et al., 2014 ; Flanagan et al., 2018 ; Gasperi et al., 2022). La contribution de la zone amont à l'accumulation totale des MPO en deux ans était donc forte, par exemple pour le 4-NP elle était de 99,8 % pour FS et de 79 % pour FR.

Concernant les alkyphénols éthoxylés (Annexe 3-12), l'accumulation était faiblement négative dans le filtre FR peu importe les zones (-0,1 à -1,9 mg/m²/an) et était un peu plus élevée pour FS. Dans ce dernier, l'OP1EO, OP2EO et le NP1EO n'ont pas montré d'accumulation plus importante en amont qu'en aval, les valeurs d'accumulation, avaient plutôt tendance à être plus élevées en aval. Par exemple, l'OP1EO était 16 fois plus accumulé en aval qu'en amont.

Ces résultats confirment que les MPO émergents sont rapidement retenus dans la zone amont des FPR, grâce à leur piégeage par la formation de sédiment mais probablement aussi grâce aux teneurs élevées en carbone organique dans le sédiment et le sable de surface enrichi en particules organiques. Ainsi, contrairement aux éléments traces métalliques (ETM), la zone aval reste la zone la moins accumulée, en accord avec d'autres observations pour des HAP (Napier et al., 2009 ; Istenič et al., 2011 ; Tedoldi et al., 2017 ; Walaszek et al., 2018).

Les vitesses d'accumulation plus élevées en aval pour quelques MPO moins concentrés (OP1EO, OP2EO) semblent peu liées à leur faible rétention en amont, puisque ces composés sont hydrophobes, à des valeurs similaires que le 4-NP et 4-OP (Bergé, 2012 ; ECHA, 2012). Une explication alternative pourrait être attribuée à des vitesses de dégradation plus lentes des MPO en aval en raison d'une activité microbienne moins intense, entraînant des apports supérieurs aux pertes dans cette zone. Les faibles teneurs en amont de ces MPO conduiraient alors rapidement à des niveaux inférieurs à la LQ grâce à une dégradation plus active, contrairement au 4-NP, 4-OP et BPA qui sont plus concentrés dans les FPR. Cette hypothèse sera examinée de manière approfondie dans la section suivante (XI.4) puis dans le chapitre XII -.

Toutefois, ces résultats suggèrent que tous les MPO émergents, malgré leur nature particulière et hydrophobe, ne sont pas exclusivement retenus dans la zone amont, en particulier le 4-NP qui s'accumule jusque en aval.

● Vitesses d'accumulation des MPO à l'échelle des FPR

Pour finir, les vitesses d'accumulation surfacique en MPO émergents en un an peuvent être comparées sur **l'ensemble des deux FPR** (Figure 3.14). En termes de masse accumulée, le filtre FS a accumulé en un an (entre T1 et T2) 2,4 g de BPA, 1,1 g de 4-OP et 48,6 g de 4-NP tandis que dans le filtre FR c'était 0,2 g de BPA, -0,5 g de 4-OP et 56,2 g de 4-NP. En rapportant ces masses à la surface totale, l'accumulation surfacique annuelle était dans le filtre FS de 3,6 mg/m²/an pour le BPA, 1,6 mg/m²/an pour le 4-OP et 71,2 mg/m²/an pour le 4-NP et était dans le filtre FR de 0,3 mg/m²/an pour le BPA, -0,8 mg/m²/an pour le 4-OP et 92,2 mg/m²/an pour le 4-NP. Ces trois MPO ont donc été accumulés dans les deux FPR en un an, sauf le 4-OP dans FR. Les ordres de grandeurs d'accumulation restaient similaires entre les deux FPR (4-NP > BPA > 4-OP) et étaient cohérents avec les concentrations retrouvées dans les eaux de ruissellement (Gasperi et al., 2014 ; Flanagan et al., 2018 ; Gasperi et al., 2022).

Cependant le filtre FR semble avoir accumulé en un an plus de 4-NP que FS (lié à l'accumulation plus importante dans le sédiment de FR surtout) et le filtre FS plus de 4-OP et BPA (lié à l'accumulation négative dans le sédiment de FR), ne montrant donc pas de tendance claire selon le FPR. Le Rc ne semble pas avoir participé à une accumulation plus importante des MPO que le sable, le 4-NP et BPA

ont toutefois été légèrement plus enrichis dans le Rc que dans le sable moyen de FS. Les processus de rétention et d'élimination ayant lieu en parallèle pour ces composés, il est complexe de comparer à un instant t le stock dans une couche. Ces résultats révèlent que malgré des processus destructifs tels que la dégradation, une accumulation des MPO, surtout le 4-NP, le BPA et à plus faible mesure le 4-OP et OP1EO dans le filtre FS a eu lieu en un an d'alimentation.

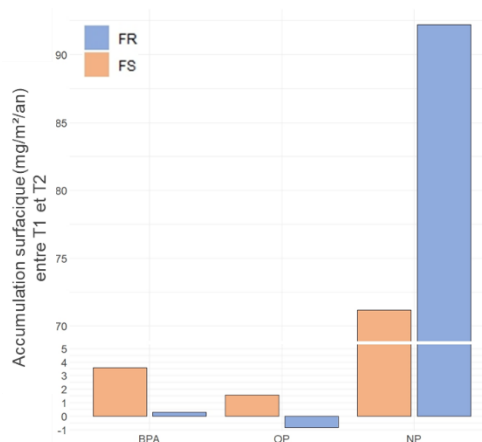


Figure 3.14 : Accumulation surfacique ($\text{mg/m}^2/\text{an}$) des différents MPO émergents les plus concentrés entre T1 et T2 pour l'ensemble des deux filtre FS (orange) et FR (bleu). Une rupture de l'axe y a été réalisée pour une meilleure visibilité.

Le bilan de l'accumulation sur deux ans d'alimentation (Annexe 3-12) a révélé que seul le 4-NP a été significativement accumulé dans les deux FPR, révélant une contamination plus faible qu'initialement. Cela permet de conclure que peu d'accumulation des MPO émergents serait attendu avec le temps dans les FPR en raison de leurs plus faibles concentrations dans les eaux mais également de leur dégradation dans le temps, sauf pour le 4-NP.

XI.2.5. Discussion sur l'évolution de la contamination en micropolluants

- Une accumulation, hétérogène dans l'espace, qui ne semble pas être améliorée par le Rainclean mais impactée par les eaux claires alimentant les FPR par temps sec

Tout d'abord, les principales conclusions pour chaque famille de micropolluants sont rappelées. Concernant les **ETM** dans les deux FPR, l'ordre d'accumulation était le suivant : $\text{Zn} \gg \text{Cu} > \text{Cr}, \text{Ni}, \text{Pb} \gg \text{Cd}$, ce qui concorde avec les concentrations observées dans les eaux de ruissellement en Europe (Stachel et al., 2010 ; Leroy et al., 2016 ; Flanagan et al., 2018 ; Gasperi et al., 2022). La répartition spatiale variait selon les ETM, avec le Zn, Cu, Pb et Cd principalement retenus en surface et en amont, tandis que le Ni et Cr étaient plutôt retenus en profondeur et en aval, reflétant une mobilité différente de ces deux groupes d'ETM, ayant des comportements intrinsèques chimiquement différents. Ces ETM sont retenus par des processus de sédimentation, de filtration et d'adsorption (non visible dans le massif) à des intensités différentes, et le Ni et Cr étant plus mobiles, ils sont plus fortement remobilisés lors du passage des eaux claires.

L'accumulation était également différente selon le substrat ; le sédiment a montré une accumulation volumique des ETM seulement pour le Cd et Pb, sinon l'accumulation était négative. Cela souligne l'impact des eaux claires sur cette couche également. Cependant, son volume ayant augmenté, l'accumulation entre T0 et T2 était la plus importante dans cette couche, contribuant alors à un fort pourcentage du stock total d'ETM accumulés dans les FPR au bout de deux ans. Le sable de surface était le principal accumulateur du Pb et Zn et à plus faible mesure du Cu et Cd (et Cr dans FS). Dans le filtre FS, il était celui accumulant le plus d'ETM (sauf Pb et Cd, plus accumulés dans le sédiment). Le Rc accumulait surtout le Ni et le Cr, majoritairement en aval, et dans une moindre mesure, le Cd et le Cu. Enfin, le sable profond présentait une accumulation très limitée des ETM, essentiellement pour le Ni et le Cr. Ces variations s'expliqueraient d'une part par la distribution dissoute/particulaire des ETM dans l'eau de ruissellement et par leur mobilité une fois retenus (les ETM moins mobiles sont moins soumis aux processus de remobilisation). D'autre part, la nature des substrats dans les FPR induisent

des processus de rétention différents. Ces résultats permettent de conclure de **l'accumulation** des ETM dans les FPR avec le temps, même si des pertes locales ont été observées.

L'accumulation n'était donc pas comme celle le plus souvent décrite par la littérature, certains ETM s'accumulaient en aval, et la zone centre accumulait moins d'ETM que la zone aval. Les volumes d'eaux de nappe ayant circulé dans les FPR sont importants (56 % des volumes totaux en moyenne sur les deux campagnes). Etant faiblement contaminée, l'hypothèse la plus probable est la **remobilisation des ETM par ces eaux** en amont, zone la plus sollicitée par les eaux claires. Ce processus semble important dans les FPR. La question suivante est alors posée : les ETM remobilisés sont-ils retenus à nouveau dans les FPR où sont-ils évacués hors du système avec les eaux supposées traitées ? Les données de qualité des eaux en entrée et sortie des filtres n'étant pas encore disponible, cette hypothèse ne pourra pas être confirmée.

Une tentative **d'estimation** des concentrations en ETM dans les eaux de ruissellement (réelles concentrations non disponibles à ce jour) a alors été entreprise à partir du stock total d'ETM accumulé dans chaque FPR en deux ans (T0-T2). Pour cela, chaque masse totale d'ETM accumulé a été divisée par le volume total d'eau de ruissellement uniquement ayant circulé entre ces deux périodes (g/m³). L'hypothèse de flux homogènes d'ETM a été faite ainsi que les eaux claires n'apportent pas de contaminant (ce qui n'est pas vraiment le cas, cf. Tableau 3.3, au T0). Puis les valeurs sont rapportées en µg/L permettant de comparer ces concentrations avec d'autres eaux de ruissellement. Le Tableau 3.9 présente les concentrations théoriques obtenues, et les compare avec des eaux d'autoroute en Ile-de-France, dont les concentrations seraient proches (Flanagan et al., 2018). Le Cd et Cr, étaient proches de la médiane mesurée ; le Cu, Pb et Zn étaient dans la tranche basse et le Ni était dans la tranche haute. Même si les concentrations sont certainement différentes de celles de l'étude utilisée pour la comparaison (bassin versant différent), les concentrations théoriques en Ni semblent assez élevée. Cela indique que l'ETM le plus mobile ne serait pas exporté hors du système lors du lessivage ou lixiviation des substrats en amont par les eaux claires. Cependant, le Cu, Pb et Zn étaient plus faiblement concentrés donc les résultats variaient selon les ETM. Les données de qualité des eaux en sortie sont donc nécessaires pour conclure sur ce processus.

Tableau 3.9 : Comparaison des concentrations théoriques en ETM dans les deux filtres (µg/L, calculées à partir du stock d'ETM accumulé mesuré au T2 (g/2ans) divisé par le volume total d'eaux de ruissellement infiltré) avec des concentrations mesurées dans le ruissellement d'autoroute en Ile-de-France (Flanagan et al., 2018).

| ETM | Concentration théorique calculée (µg/L) | Concentration de voirie en Ile-de-France : médiane (min-max) (µg/L) |
|-----|---|---|
| Cd | 0,32 - 0,39 | 0,30 (0,11-0,72) |
| Cr | 24,27 - 36,85 | 37,2 (12,3-83,3) |
| Cu | 104,88 - 156,58 | 258 (98-546) |
| Ni | 28,49 - 30,23 | 16,2 (1,9-38,9) |
| Pb | 26,71 - 41,75 | 62,9 (15,8-139,2) |
| Zn | 265,97 - 292,33 | 693 (236-1653) |

Pour les MPO, l'ordre d'accumulation global était HC >> 4-NP >> BPA > 4-OP (et OP1EO dans FS) > alkylphénols éthoxylés, en cohérence avec les concentrations typiques dans des eaux de ruissellement de voirie (Rozkošný et al., 2014 ; Flanagan et al., 2018). Les HAP étaient toujours inférieurs à la LQ (plus élevée que pour les MPO émergents donc mesure moins précise), ils ne sont pas discutés. L'ordre des MPO entre les substrats étant similaire, la nature du substrat ne semblait pas impacter leur rétention. Comme pour les ETM les plus particulières, l'accumulation des MPO était plus importante en amont et en surface des deux FPR pour les indices HC, 4-NP, 4-OP et BPA, indiquant que les processus de sédimentation, filtration et adsorption hydrophobe dominaient et étaient homogènes pour la rétention des différents MPO. En revanche, quelques alkylphénols éthoxylés étaient plus accumulés en aval et en profondeur. Cette observation pourrait s'expliquer par les communautés microbiennes présentes dans les FPR, elle sera discutée une fois les données microbiologiques présentées.

Contrairement aux ETM, les stocks et les vitesses d'accumulation des MPO émergents étaient plus faibles à l'échelle des FPR, avec quelques g contre quelques kg accumulés dans chaque FPR en un an pour les MPO émergents et ETM respectivement. Des accumulations négatives à l'échelle des FPR ont même été quantifiées pour de nombreux MPO, traduisant des pertes supérieures aux apports ; le 4-NP et BPA étaient les seuls MPO ayant eu une accumulation annuelle positive à l'échelle des deux FPR. Ces accumulations plus faibles, voire négatives, seraient expliquées d'une part par des concentrations généralement plus faibles dans les eaux de ruissellement comparé aux ETM (*Flanagan et al., 2018 ; Gasperi et al., 2022*), mais également par la nature **destructive** de ces composés dont les mécanismes de **dégradation** entrent alors en compétition avec l'accumulation (*Leroy et al., 2015*). L'hypothèse de leur dégradation avec le temps est envisagée, mais les données sur la qualité de l'eau en sortie des filtres seront essentielles pour révéler si ces pertes sont liées au lessivage et/ou à la lixiviation hors du système, ou bien à la dégradation des MPO dans le système (ou une combinaison de ces processus). En effet, le fort volume d'eaux claires circulant dans les FPR pourrait induire une migration des micropolluants hors du système. Cependant, les résultats n'ont pas mis en évidence le phénomène de remobilisation par le passage des eaux claires, notamment car contrairement aux ETM, l'élimination peut se produire selon d'autres processus. Le sédiment de FS et le sable de surface en amont des deux FPR auraient alors des apports en MPO supérieurs aux pertes, impliquant une accumulation tandis que les autres couches et zones seraient plutôt caractérisées par des pertes supérieures aux apports, impliquant alors des valeurs nulles voir négatives d'accumulation en un an.

Le Rc n'a pas montré des accumulations importantes des MPO en un an, elles étaient plus faibles que pour le sable de surface, mais légèrement plus élevées que pour le sable moyen de FS. Cependant, ces résultats seuls ne permettent pas de valider que peu d'accumulation a eu lieu puisque les pertes par dégradation pourraient avoir eu lieu, rendant l'accumulation invisible lors du prélèvement des échantillons. Des plaques poreuses ont été placées entre les différentes couches des deux FPR, elles permettront dans le futur de réellement observer où les MPO sont retenus avant d'être dégradés.

Enfin, les teneurs de nombreux MPO ont présenté une diminution entre T0- T1 (Tableaux 3.6 et 3.7), impliquant un bilan global de l'accumulation surfacique négatif ou nul à l'échelle des FPR (Annexe 3-12). Cette diminution suggère que lors des prélèvements au T1, les pertes ont dépassé les apports. L'annexe 2-2 a révélé que le temps de ressuyage des FPR avant les prélèvements était plus long au T1 qu'au T2 (13 et 22 jours au T1 contre 2 et 3 jours au T2, pour FS et FR respectivement). Étant donné que la dégradation des polluants est plus prononcée pendant cette phase notamment en raison d'une meilleure oxygénation (*Kadlec et Wallace, 2009; Molle et al., 2004*), cela expliquerait les concentrations plus faibles observées au T1 par rapport au T0. Ainsi, ces résultats suggèrent que peu d'accumulation des MPO surviendrait après plusieurs dizaines de jours dans les deux FPR. Il faudra toutefois être vigilant concernant la fraction non biodisponible de ces MPO, qui aura tendance à s'accumuler dans le temps en raison de leur faible biodégradabilité (*Liu et al., 2014 ; Dodgen et al., 2014 ; Fent et al., 2003*), particulièrement dans le sédiment. Toutefois, en deux ans d'alimentation, le bilan total a révélé que les deux FPR avaient seulement accumulé du 4-NP, le MPO le plus concentré dans les eaux de ruissellement (Annexe 3-12 et Tableau 3.8). Cela suggère que pour les autres MPO, le stock était plus faible au T2 qu'avant le début de l'alimentation, confirmant la présence de processus microbiens dans cette élimination et indiquant un risque plus faible d'accumulation dans le temps.

Les différentes unités utilisées ont permis d'évaluer la **contamination** (teneur), le **stock** (teneur volumique ou teneur surfacique) et l'**accumulation** (volumique ou surfacique) des ETM et MPO, permettant d'observer des différences selon l'unité utilisée. Les différences d'accumulation entre le sable de surface et profond pour le Ni étaient faibles en termes de teneur, mais plus importantes en les rapportant au volume. Le sédiment, dont les teneurs ont peu évolué entre T1 et T2, a tout de même révélé un stock total d'ETM important et croissant avec le temps en raison de l'augmentation de son volume. Un dernier exemple est que les teneurs n'indiquaient pas que les ETM semblaient plus stockés en aval qu'au centre contrairement à l'accumulation. L'unité utilisée est donc un paramètre important à prendre en compte pour comparer les échantillons au mieux, surtout lorsque les masses volumiques sont très variables selon le substrat. *Vymazal (2016)* avait montré l'importance de l'unité utilisée pour évaluer l'accumulation dans des roseaux de filtre. Selon l'utilisation de teneurs (g/kg) ou de teneur surfacique (g/m²), ses conclusions étaient différentes. Nos résultats suggèrent la même conclusion pour l'évaluation de l'accumulation des ETM dans des FPR. Intégrer la notion de surfaces ou volumes

différents aux résultats permet de s'affranchir des différences de surfaces ou volumes et d'obtenir des conclusions plus précises selon les questions posées. En revanche, les différences d'observation entre l'utilisation des teneurs ou des vitesses d'accumulation étaient plus faibles pour les MPO.

En regroupant tous les micropolluants étudiés dans ce sous-chapitre, les résultats ne semblent **pas** indiquer un **rôle significatif du Rc dans le filtre FR par rapport à FS**, d'autant qu'il a reçu un volume d'eau de ruissellement plus important, mais contenant plus d'eaux par temps sec. Le filtre FR semble accumuler légèrement plus de micropolluants métalliques, de 4-NP et d'HC, mais c'était surtout lié à la présence du sédiment. Il n'a donc à ce jour pas permis une accumulation plus importante des micropolluants à l'échelle du filtre total, même si des accumulations plus élevées ont été constatées à une échelle plus réduite, surtout pour les ETM. En vue du jeune âge de cet ouvrage, plus de temps semble alors nécessaire pour constater si ce substrat jouerait un rôle important en étant inséré dans un FPR. En effet, une diminution des sites de sorption dans les couches sus-jacentes (*Tedoldi et al., 2020*) et une réduction des volumes libres entre les grains de sable de surface sont notamment attendus avec le temps ce qui pourrait rendre le Rc plus actif. De plus, les résultats de qualité des eaux en entrée révéleront la proportion de micropolluants sous forme dissoute, qui pourrait être très faible, limitant alors le rôle du Rc.

Le sédiment, dont les propriétés physico-chimiques indiquent des sites d'adsorption riches et de forts taux en matières organiques (Tableau 3.1) indique que son rôle sur la rétention de la pollution dissoute serait non négligeable. Cependant, les résultats obtenus pour les ETM ne montraient aucune augmentation des teneurs avec le temps (Tableau 3.3), ils semblent donc réfuter cette hypothèse. Il faudrait étudier si des phénomènes de lixiviation des ETM dissouts et/ou colloïdaux ont lieu dans le sédiment. Ils pourraient expliquer l'absence d'augmentation puisque des volumes non négligeables d'eaux claires circulent dans l'ouvrage. Ou bien une saturation des sites de sorption des ETM aurait pu avoir lieu dès la première année d'alimentation. En revanche, les teneurs en MPO émergents ont de leur côté augmenté avec le temps (Tableau 3.6), particulièrement le BPA, 4-OP et 4-NP. Cela révèle que le sédiment participerait à la rétention et accumulation des MPO une fois accumulé en surface des FPR. De l'adsorption forte pourrait ainsi avoir lieu pour les MPO dans ce substrat très organique, limitant leur possible lixiviation. Il sera donc primordial de connaître la composition des eaux de ruissellement alimentant et sortant du filtre afin de valider les différentes observations faites dans ce sous-chapitre. Les difficultés de prélèvements automatiques dans l'ouvrage ont freiné l'acquisition de ces données pour le moment.

Une matrice de **corrélations** de Spearman (Annexe 3-13) a été réalisée entre les accumulations volumiques des ETM, des MPO émergents et du carbone organique entre T0 et T2 (en g/m³/an) à partir des données d'accumulation des Annexes 3-7, 3-12 et 3-14. La distance depuis la zone d'alimentation et la profondeur dans les FPR ont également été utilisés pour réaliser cette matrice.

Les coefficients obtenus entre chaque **ETM** et le carbone organique accumulé (Tableau 3.10) montrent que le Cd, Cu, Pb et Zn étaient significativement et positivement corrélés à l'accumulation en carbone organique, avec des coefficients variants entre 0,73 et 0,85 (p-values < 0,001). Le Cr et Ni en revanche n'étaient pas fortement corrélés à ce paramètre et la corrélation n'était pas significative pour le Ni (coefficients de 0,50 et 0,37 respectivement). Cela démontre que Cd, Cu, Pb et Zn sont fortement liés aux particules organiques contenues dans les eaux de ruissellement, piégées majoritairement en amont et en surface. En effet, le carbone organique accumulé était significativement négativement corrélé à la distance depuis la zone d'alimentation et à la profondeur (coefficients significatifs de -0,59 et -0,72 respectivement, p-values < 0,01). La corrélation était plus faible selon la distance puisque selon la localisation verticale, l'accumulation en carbone organique était différente. Si le sable de surface est uniquement considéré, la corrélation entre la distance et le carbone organique accumulé était significative et négative, atteignant un coefficient de -0,95 (p-value = 0,003). Le carbone organique accumulé est donc un bon indicateur de la localisation horizontale et verticale dans un FPR.

Pour les MPO, les coefficients obtenus indiquaient que tous les MPO émergents, sauf l'OP1EO, OP2EO et NP1EO étaient également significativement et positivement corrélés à l'accumulation en carbone organique, les coefficients variaient entre 0,47 et 0,77 (p-values < 0,05). Le 4-OP était le moins corrélé

en raison de ses pertes plus importantes dans les FPR, et le 4-NP était le plus fortement corrélé. Ainsi, les MPO les moins concentrés étaient ceux présentant les coefficients les plus faibles.

Tableau 3.10 : Coefficients de corrélation de Spearman ($n = 20$) obtenus entre le carbone organique accumulé, la distance depuis la zone d'alimentation, la profondeur et les différents micropolluants accumulés entre T0 et T2 (g/m3/an). Les coefficients en gras sont ceux supérieurs à 0,60 et ceux ayant un * sont significatifs. * : p-values < 0,05 ; ** : p-values < 0,01 ; *** : p-values < 0,001.

| | Corg_acc | Distance | Profondeur |
|------------------|-----------------|------------------|-------------------|
| Corg_Acc | - | -0,59 ** | -0,72 *** |
| Cd_Acc | 0,77 *** | -0,71 *** | -0,65 ** |
| Cr_Acc | 0,50 * | -0,73 *** | -0,30 |
| Cu_Acc | 0,73 *** | -0,52 * | -0,80 *** |
| Ni_Acc | 0,37 | -0,67 ** | -0,29 |
| Pb_Acc | 0,77 *** | -0,62 ** | -0,62 ** |
| Zn_Acc | 0,85 *** | -0,52 * | -0,85 *** |
| BPA_Acc | 0,65 ** | -0,53 * | -0,51 * |
| OP_Acc | 0,47 * | -0,57 ** | -0,21 |
| OP1EO_Acc | 0,09 | -0,05 | -0,29 |
| OP2EO_Acc | 0,42 | -0,64 ** | -0,06 |
| NP_Acc | 0,77 *** | -0,42 | -0,75 *** |
| NP2EO_Acc | 0,48 * | -0,30 | -0,53 * |
| NP1EO_Acc | 0,39 | -0,39 | -0,34 |

Les résultats présentés ont révélé que l'accumulation d'ETM et de MPO dans le sable de surface du filtre FS était généralement plus prononcée que dans FR. L'analyse du Tableau 3.1 a également indiqué des teneurs plus élevées de carbone organique dans le sable de surface de ce filtre. Par conséquent, ces corrélations expliquent la plus grande accumulation observée dans le filtre FS. D'autre part, le filtre FR ayant été plus fortement alimenté par des eaux claires, cela pourrait également expliquer ces différences.

Il est plus complexe de conclure sur les corrélations des micropolluants avec la distance et la profondeur puisque chacun inclut des substrats ou des zones différentes. Par exemple, le 4-NP n'est pas significativement corrélé avec la distance alors que les résultats ont montré une tendance nette. Cependant, ces résultats indiquent tout de même que les ETM étaient positivement corrélés avec ces deux paramètres (coefficients entre 0,52 et 0,85, p-values < 0,05) sauf le Cr et Ni qui n'était pas significativement corrélés avec la profondeur, confirmant leur comportement plus mobile dans les FPR.

Ainsi, cette matrice de corrélation confirme l'importance des couches de surface en amont des deux FPR pour l'accumulation préférentielle des micropolluants. L'accumulation significative des ETM et MPO en amont souligne l'impact de l'alimentation sur la distribution horizontale de ces micropolluants dans les FPR, majoritairement particulaires et/ou hydrophobes.

● *Comparaison des teneurs observées avec des valeurs seuils :*

Dans la Partie 1 (cf. II.7), **des teneurs seuils en ETM et MPO** (HAP et phtalates seulement) dans les sols ont été synthétisées selon plusieurs pays (Tableaux 1.17 à 1.19). La France n'ayant pas de telles valeurs seuils, les teneurs présentées dans ce chapitre sont maintenant comparées aux seuils d'autres pays (Tableau 3.11). Cette comparaison permet de mettre en évidence qu'après deux ans d'alimentation, les teneurs en Cu et Zn dans le **sédiment** étaient supérieures au seuil le plus élevé ; le Cu était 1,9 à 2 fois plus élevé et le Zn était 1,8 fois plus élevé dans le sédiment par rapport à la valeur seuil. Les teneurs en Cd, Cr et Pb dépassaient de leur côté uniquement leur seuil défini le plus faible. Le Ni est le seul ETM ne dépassant aucun seuil. Concernant le **sable**, les teneurs dans le sable de surface et profond n'ont dépassé aucun seuil défini après deux ans d'alimentation. Dans le **Rc** cependant, les teneurs en Cu et Ni ont dépassé le seuil le plus strict uniquement, pouvant être jusqu'à

1,4 fois plus élevées pour les deux ETM que la teneur seuil. Le sédiment, couche la plus contaminée, est donc celle dépassant le plus les seuils définis par d'autres pays (Cd, Cr, Cu, Pb, Zn).

Tableau 3.11 : Comparaison des teneurs en métaux retrouvées au T2 dans les différents substrats des deux filtres regroupés (teneur minimum et maximum observée) avec les teneurs seuils indiquées par d'autres pays. Les seuils les plus stricts et moins stricts sont fournis. Les cellules en vert sont les teneurs ne dépassant aucun seuil, celles en orange dépassent le seuil le plus strict et celles en rouges dépassent le seuil le moins strict.

| Métal | Teneur au T2 (mg/kg) (min-max) | | | | Teneur seuil (mg/kg) (min-max) |
|-----------|--------------------------------|------------------|-------------|---------------|--------------------------------|
| | Sédiment | Sable de surface | Rc | Sable profond | |
| Cd | 1,65-1,77 | 0,06-0,16 | 0,18-0,20 | 0,04-0,05 | 0,8 - 40 |
| Cr | 83,1-87,5 | 9,2-15,8 | 28,9-48,2 | 10,0-13,4 | 80 - 520 |
| Cu | 558,6-573,5 | 12,2-50,8 | 60,8-114,5 | 4,7-6,7 | 80 - 290 |
| Ni | 35,1-35,2 | 8,6-14,7 | 36,2-57,1 | 12,0-17,2 | 40 - 300 |
| Pb | 222,2-235,6 | 6,5-21,7 | 11,8-18,9 | 4,0-6,3 | 50 - 700 |
| Zn | 1272-1300 | 37,7-133,8 | 112,6-141,5 | 15,5-24,0 | 250 - 720 |

Les différents seuils présentés (définis en Belgique, Pays-Bas, Canada et Suède, le premier et dernier étant le moins et le plus strict) ont été défini comme des seuils d'intervention en cas d'utilisation sensible des sols (récréative, commerciale, résidentielle, institutionnelle) ou pour atteinte aux propriétés fonctionnelles du sol pour les êtres vivants (Fouchécourt et al., 2005 ; Parlement Wallon, 2008 ; Meijer, 2009 ; INSURE, 2017). Même si le filtre n'a pas une utilisation récréative, il est tout de même inséré dans le paysage du Bois de Boulogne et reste accessible à la population. Son utilisation est donc sensible. Ce dépassement des teneurs en ETM dans le sédiment est particulièrement important à connaître puisqu'il s'agit de la couche affleurante, directement en contact avec l'air, donc avec l'Homme. Les teneurs augmentaient faiblement entre deux pas de temps, ce qui indique une constance des concentrations dans les eaux, et que ces valeurs resteront stables (même si les eaux claires tendent à réduire les teneurs avec le temps). Cependant, ces teneurs (sauf le Ni) sont suffisamment élevées pour dépasser la majorité des seuils, indiquant qu'une action sera nécessaire par les gestionnaires de l'ouvrage. De plus, contrairement au sédiment, une accumulation des ETM est observée avec le temps pour le sable de surface et le Rc. Le Rc étant placé en profondeur, sa faible exposition rend le risque très faible donc sa pollution est moins importante à gérer. En revanche, le sable de surface est présent en surface, au contact avec l'atmosphère lorsque le sédiment n'est pas présent ou bien érodé. Il semble donc important de suivre sa contamination avec le temps afin de pouvoir gérer ce substrat une fois devenu déchet avec le temps et l'alimentation du filtre.

Une autre notion importante pour les êtres vivants est la biodisponibilité. Si l'ETM est fortement lié aux particules, il ne sera que très peu biodisponible et aura donc un impact écotoxicologique moindre (LeFevre et al., 2014 ; Hong et al., 2006). De plus, sa forte liaison limiterait également les phénomènes de lixiviation dans le filtre. La rétention des micropolluants dans le Rc est très certainement plus forte que dans le sable, des extractions simples ou séquentielles permettraient de connaître leur mobilité une fois retenus (Cornu, 2000). Cela devait initialement être étudié au cours de la thèse, mais par manque de temps, il n'a pas été possible d'évaluer la mobilité des ETM dans les différents échantillons.

Les MPO sont moins encadrés dans les sols. Les HAP sont les plus souvent réglementés (dans les mêmes pays que pour les ETM, Tableau 1.19) et les phtalates sont la seule famille de MPO émergents étudiés ayant des valeurs seuils définies par un seul pays (Pays-Bas). N'ayant pas pu être analysés en raison d'une panne de l'appareil, seuls les HAP au T2 peuvent être comparés avec les seuils. Dans les sédiments, aucun HAP n'avait de teneur supérieure au seuil défini, elles restaient faibles par rapport aux valeurs les plus strictes (1 mg/kg).

Pour terminer cette section sur la contamination des substrats, une **extrapolation** a été réalisée pour évaluer le nombre d'année avant que le sable de surface et le Rc soient considérés comme contaminés par ces seuils présentés (sédiment déjà considéré comme contaminé). La méthodologie de calcul est disponible en Annexe 3-15. Brièvement, le principe est que pour chaque zone, les teneurs seuils sont rapportées en stock (selon les propriétés des deux substrats) puis le stock initial et la vitesse

d'accumulation d'ETM dans l'échantillon sont utilisés pour déterminer le temps nécessaire pour que le stock soit considéré comme pollué par ces normes. Les valeurs minimum et maximum ont été utilisées pour obtenir un temps minimum et maximum. Les temps sont résumés dans le Tableau 3.12, lors qu'aucune valeur n'est présente, cela traduit le fait que la vitesse d'accumulation était négative.

Tableau 3.12 : Temps (an) nécessaire pour dépasser les seuils min et max définis par les Pays selon les vitesses d'accumulation calculées dans les différentes zones du sable de surface et Rainclean (entre T1 et T2). 3 niveaux de couleurs par substrat sont définis : orange foncé – orange médian – orange clair correspondant au classement des temps de dépassement des seuils (1^{er} dépassement – 2^{eme} dépassement – 3^{ème} dépassement).

| Substrat | Temps (an) pour atteindre le seuil min - max défini par les Pays | | | | | |
|---------------------|--|----------|---------|---------|----------|---------|
| | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
| Sable amont | 11 - 361 | 11 - 48 | 3 - 6 | 10 - 53 | 5 - 49 | 3 - 6 |
| Sable centre | 166 - 6464 | - | 19 - 53 | - | 57 - 664 | 28 - 62 |
| Sable aval | 29 - 2035 | 53 - 538 | 9 - 43 | 8 - 132 | 18 - 387 | 10 - 39 |
| Rc amont | 6 - 336 | 6 - 42 | 2 - 9 | 2 - 21 | 10 - 149 | 4 - 11 |
| Rc centre | 48 - 2885 | - | 2 - 15 | - | - | - |
| Rc aval | 8 - 492 | 4 - 32 | 1 - 7 | 1 - 13 | 6 - 93 | 3 - 12 |

Les résultats de l'extrapolation indiquent que pour le **sable de surface**, les deux premier ETM qui dépasseront les seuils seraient le Cu et le Zn dans entre 3 et 6 ans (seuil min ou seuil max). Le dépassement sera ensuite pour le Pb (dans entre 5 et 49 ans) et enfin pour le Ni (dans entre 8 et 132 ans). Le Cu, Zn et Pb dépasseront les seuils d'abord en amont des FPR, et le Ni dépassera en aval, en lien avec sa mobilité plus forte. Ces extrapolations sont cohérentes avec les accumulations annuelles observées, plus importantes pour le Zn et Cu, et pour le Pb (du même ordre de grandeur que Ni et Cr dans le sable de surface) il dépassait plus vite les seuils en raison de sa mobilité plus faible dans les FPR.

Dans le **Rc**, l'extrapolation indique que les deux premiers ETM qui dépasseront les seuils seraient le Cu et Ni dans entre 1 et 7 ou entre 1 et 13 ans (Cu et Ni respectivement). Le Zn sera l'ETM dépassant ensuite le seuils (dans entre 3 et 12 ans), suivi du Cr (dans entre 4 et 32 ans). Tous les dépassements ont eu lieu en aval du FPR, ainsi il sera nécessaire de suivre cette zone. En rapportant les teneurs en masse, le Ni ne dépassait pas le seuil au T2 dans le Rc alors qu'en termes de teneurs si. Cependant, dans un an seulement au minimum les valeurs seraient dépassées, ou 13 ans au maximum.

Ainsi, la zone en amont des deux FPR sera la plus importante à suivre pour le sable de surface puisqu'elle accumule le plus d'ETM, sauf le Ni. En revanche ce sera la zone aval la plus à risque pour le Rc, pour tous les ETM. Le temps pour dépasser les seuils du Cd sont plus élevés dans les deux substrats, avec la zone amont qui sera la première à dépasser les seuils pour les deux substrats.

XI.3. Micropolluants dans la biomasse aérienne des *P. australis*

*XI.3.1. Teneurs en ETM et MPO dans les parties aériennes de *P. australis**

Lors du faucardage des **parties aériennes** des *P. australis* en février 2023, les masses totales exportées ont été relevées, et trois zones d'1 m² étaient récupérées dans chaque filtre, une en amont, une au centre et une en aval. Les ETM, HAP, AP et BPA ont ensuite été dosés sur trois répétitions d'échantillons broyés mais non rincés. Cela diffère donc de la préparation généralement faite pour quantifier l'accumulation en polluants dans les tissus, où les parties sont rincées à l'eau distillée ou ultrapure afin de retirer un maximum de micropolluants potentiellement adsorbés (*Klink et al., 2019*). Dans la présente étude, un objectif opérationnel était d'évaluer la quantité de micropolluants réellement **exportée**, pas juste accumulée dans les tissus ce qui justifie notre choix méthodologique. Un bilan complet de l'accumulation de micropolluants au sein des *P. australis* sera réalisé lors de la prochaine campagne de prélèvement (hors thèse).

Les résultats des teneurs moyennes en **ETM** obtenues pour chaque échantillon sont fournis en Annexe 3-16. La Figure 3.15A représente les teneurs moyennes en regroupant tous les échantillons de chaque filtre. Aucune différence significative de teneurs en ETM n'a été relevée entre les deux filtres (KW p-values > 0,05). En regroupant les données des deux FPR ensemble, les résultats indiquaient une différence significative de teneurs entre les ETM dans les parties aériennes de *P. australis*. En effet, la relation Zn (46-53 ppm) > Cu (4,0-5,3 ppm) > Pb (0,59-0,79 ppm) > Cr (0,40-0,43 ppm), Ni (0,42-0,50 ppm) > Cd (0,03 ppm) était significative (p-values < 0,003 sauf entre le Cr et Ni où p-value = 0,13). Le Zn et Cu étaient les ETM les plus exportés au travers des parties aériennes de *P. australis*. Le Cd n'était jamais quantifié sauf pour un échantillon (centre de FS).

La Figure 3.15B représente les teneurs selon les trois zones des FPR, amont, centre et aval. Aucune différence entre les deux FPR n'ayant été révélée, ils ont été regroupés ensemble pour cette figure. Les moyennes des deux filtres indiquent une exportation significativement plus élevée en **amont** des filtres pour le Zn (77 contre 30 ppm en amont et aval), Cu (5,3 contre 3,4 ppm) et Cr (0,36 contre 0,28 ppm) par rapport à l'aval (p-values < 0,042). Le Cd et pb n'ont montré aucune différence significative entre les trois zones, et le Ni était plus concentré au centre qu'en aval uniquement.

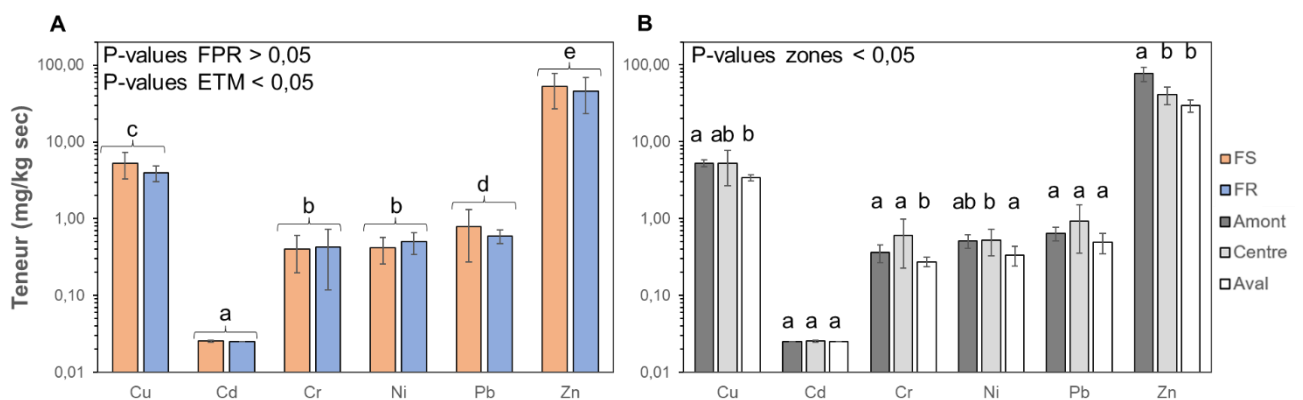


Figure 3.15 : Teneur en ETM (mg/kg) et écart-type associé dans les parties aériennes (feuilles + tiges) de *P. australis*. A : teneurs moyennes calculées pour chaque filtre (FS et FR, n = 9). B : teneurs moyennes calculées pour chaque zone (amont, centre et aval des deux filtres, n = 6). Si la teneur était inférieure à la LQ, la valeur de la LQ était utilisée. Les barres d'erreur avec des lettres différentes indiquent une différence significative (A : entre les ETM ; B : entre les zones d'un même ETM) avec p-value < 0,05 selon le test de Kruskal-Wallis. Les p-values indiquées révèlent la significativité ou non de la comparaison (inter-filtres, inter-ETM, inter-zones).

La Figure 3.16 représente les teneurs moyennes en MPO, en regroupant les échantillons des deux FPR (voir les détails en Annexe 3-17). En raison des coûts plus importants, aucune répétition n'a été réalisée contrairement aux ETM. Les teneurs des 16 HAP dosés étaient toutes inférieures à la LQ (0,1 mg/kg), comme le NP1EC (1 µg/kg), elles ne sont pas présentées.

Les deux FPR présentaient des teneurs similaires en MPO (p-values > 0,05) excepté pour l'OP2EO, où il était plus concentré dans les *P. australis* du filtre FR (7,2 µg/kg soit du ppb) que FS (2,4 ppb) (p-value = 0,011). Les données des deux FPR regroupées, les résultats indiquent une différence significative de teneurs entre les MPO émergents dans les parties aériennes de *P. australis*. Le 4-NP était le MPO le plus concentré (162-280 ppb), mais il n'était pas significativement différent du 4-OP (40,8-52,6 ppb). Le 4-OP, OP1EO (11,9-46,4 ppb), NP1EO (19,7-22,4 ppb) et NP2EO (8,6-12,8 ppb) étaient plus faiblement concentrés et étaient du même ordre de grandeur. Enfin, le BPA (<LQ-2,6 ppb) et OP2EO (2,4-7,2 ppb) présentaient les teneurs les plus faibles. Seul un échantillon du BPA avait une valeur supérieure à la LQ (amont de FS). Le 4-NP était donc le MPO émergent le présent dans les parties aériennes des roseaux. Ces valeurs restent toutefois faibles comparées aux ETM, les teneurs en 4-NP étaient situées entre celles du Cd et celles du Cr et Ni.

La Figure 3.17 représente les teneurs selon les trois zones du filtre FS (A) et FR (B). Même si les différences n'étaient pas significatives au niveau global, des différences locales étaient observées. Aucune statistique n'a pu être réalisée (aucune répétition). Dans le filtre FS, une tendance à la diminution, avec l'amont plus concentré que l'aval s'observait. C'était le cas pour le BPA (3,9 ppb contre < LQ en amont et aval), Le 4-OP (61,3 contre 40,6 ppb), l'OP1EO (16,7 contre 9,35 ppb), le 4-NP (358 contre

206 ppb) et le NP2EO (20,8 contre 3,0 ppb). L'OP2EO semblait plus concentré en aval et le NP1EO n'a pas montré de tendance particulière. Le filtre FS semble donc exporter plus de MPO émergents en amont lors du faucardage des roseaux mais plus de répétitions sont nécessaires pour l'affirmer. Le filtre FR n'a, en revanche, pas révélé de tendance particulière selon la localisation horizontale. Les parties aériennes étaient plus concentrées en aval qu'au centre du filtre sauf pour le 4-OP (par exemple, 71 contre 193 ppb de 4-NP entre le centre et l'aval). L'amont semblait plus concentré que l'aval pour le 4-OP (33,0 contre 20,2 ppb) et NP2EO (29,7 contre 7,2 ppb) mais semblait similaire pour l'OP1EO, l'OP2EO, le 4-NP et le NP1EO. Plus d'analyses sont nécessaires afin d'évaluer la dynamique des MPO dans *P. australis*. Le bilan total de l'absorption des MPO dans *P. australis* permettra de conclure sur ces observations.

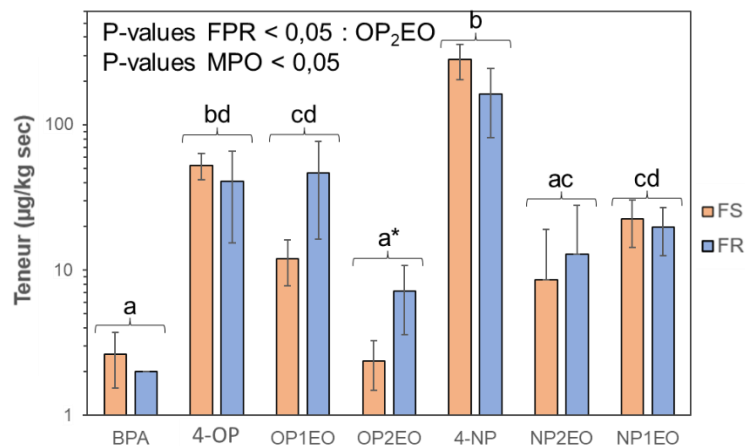


Figure 3.16 : Teneur moyenne en MPO émergents ($\mu\text{g}/\text{kg}$) et écart-type associé dans les parties aériennes (feuilles + tiges) de *P. australis* de chaque filtre (FS et FR) ($n = 3$). Les MPO dont toutes les teneurs étaient $< LQ$ ne sont pas représentés. Pour les autres, si la teneur était inférieure à la LQ, sa valeur était utilisée. Les barres d'erreur avec des lettres et/ou un * différents indiquent une différence significative (lettre : entre les MPO ; * : du MPO entre les deux FPR) avec p -value $< 0,05$ selon le test de Kruskal-Wallis. Les p -values indiquées révèlent la significativité ou non de la comparaison (inter-filtres, inter-MPO).

Il est complexe de comparer ces données avec la littérature car selon la saison, l'absorption de polluants dans les parties aériennes n'est pas la même chez *P. australis* (Salem et al., 2014 ont par exemple révélé que les teneurs étaient plus élevées dans les parties aériennes en automne) et les publications ont caractérisé les roseaux à différentes saisons. De plus, selon le site d'étude (types d'eaux reçues notamment) et l'âge de la végétation, les valeurs des ETM dans la littérature variaient puisqu'elles semblent corrélées aux teneurs dans les sols/sédiments (Salem et al., 2014 ; Schmitt et al., 2015). En comparant les données d'ETM obtenues avec d'autres études d'OGEP plantés de *P. australis* recevant des eaux de ruissellement, les teneurs des ETM étaient du même ordre de grandeur mais dans la tranche basse (Schmitt et al., 2015 ; Nawrot et al., 2021a). Le Zn et Cu dominaient également dans les tissus aériens (Nawrot et al., 2021a), mais dans la présente étude, les teneurs en Pb étaient assez élevées et pourraient être reliées à la qualité des eaux de ruissellement. Le classement des teneurs observé dans les parties aériennes ($\text{Zn} > \text{Cu} > \text{Pb} > \text{Cr}$, $\text{Ni} > \text{Cd}$) était cohérent avec celui dans le sédiment et sable de surface ($\text{Zn} > \text{Cu}$, $\text{Pb} > \text{Cr}$, $\text{Ni} > \text{Cd}$, Tableau 3.3). De plus, les ETM étaient plus concentrés que les MPO dans les parties aériennes, ce qui est cohérent avec les teneurs retrouvées dans le massif filtrant ($\text{ETM} > \text{MPO}$), confirmant l'impact de la contamination du sol/substrat sur l'accumulation de micropolluants dans *P. australis* dans cette étude (Salem et al., 2014 ; Schmitt et al., 2015 ; Nawrot et al., 2021a).

En revanche, aucune étude n'a à ce jour évalué l'accumulation de MPO dans *P. australis* en contexte d'OGEP, et concernant les MPO émergents, une seule a évalué leur absorption dans les tissus de *P. australis* (Nie et Wang, 2022), sinon il s'agissait de publications en contexte agricole (Dodgen et al., 2013 ; Wang et al., 2018 ; Jiang et al., 2019). Le facteur déterminant d'absorption par la plante de composés organiques est la nature lipophile du composé, traduit par le coefficient de partage octanol-eau **Kow**. Les composés hydrophobes ($\log Kow > 5$) sont supposés être très faiblement absorbés vers les plantes car piégés dans l'épiderme des racines (Imfeld et al., 2009). Aussi, ils sont fortement liés

aux matières particulaires du sol et aux racines, et donc moins biodisponibles pour l'absorption par les plantes (Sushkova et al., 2021). Les log Kow des MPO émergents étant compris entre 3,4 et 5,4 (le BPA ayant la valeur la plus faible et le 4-NP la plus élevée) (cf 1.7.4), une faible migration dans les plantes est attendue, avec plutôt une tendance à l'accumulation dans les racines (Wang et al., 2018). Malgré cela une accumulation a été observée dans les tissus aériens de *P. australis*, indiquant une migration possible de ces MPO émergents. Le BPA était le composé le moins retrouvé dans les *P. australis* alors que l'hypothèse inverse était initialement proposée puisqu'il s'agit du MPO le plus hydrophile et que ses teneurs dans le massif filtrants étaient plus élevées que les OPnEO et NPnEO. Dodgen et al. (2013) ont révélé dans une étude de croissance de chou en hydroponie que le BPA était moins transféré vers les parties aériennes que le 4-NP, et Nakajima et al. (2004) puis Nie et Wang (2022) qu'il pouvait être métabolisé dans les tissus végétaux par Glycosylation, ou encore par hydroxylation ou oxydoréduction. Cela pourrait expliquer les faibles teneurs de ce composé dans les tissus de *P. australis*. Pour les HAP, les études dans *P. australis* ont révélé que les teneurs absorbées étaient faibles dans les parties aériennes, entre $0,17 \cdot 10^{-3}$ et $1,4 \text{ mg/kg}$, la majorité étant inférieure à $0,4 \text{ mg/kg}$ (Minkina et al., 2022 ; Sushkova et al., 2021 ; Jeelani et al., 2020 ; Cui et al., 2015). Cela est cohérent avec les teneurs de la présente étude où toutes les valeurs étaient inférieures à $0,1 \text{ mg/kg}$.

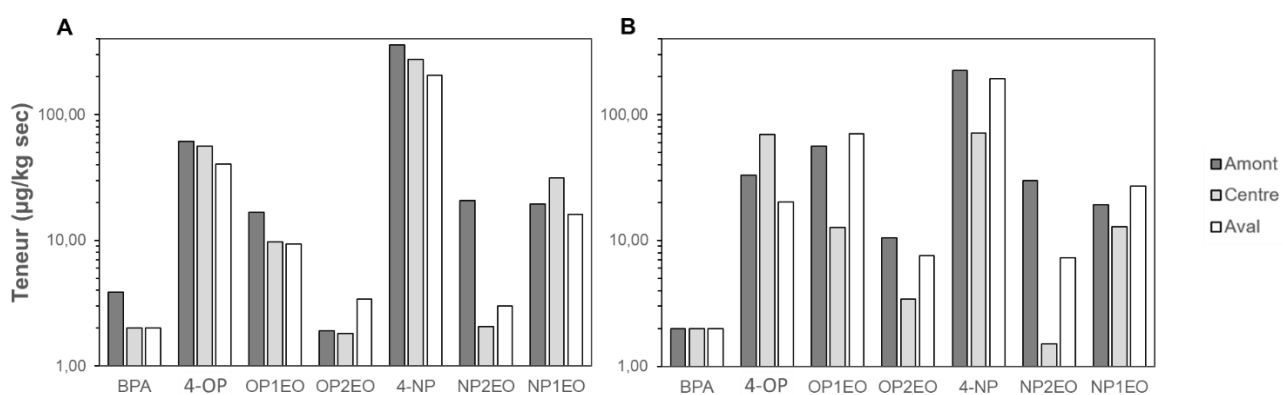


Figure 3.17 : Teneur en MPO émergents ($\mu\text{g/kg}$) dans les parties aériennes (feuilles + tiges) de *P. australis* des différentes zones (amont, centre et aval) du filtre FS (A) et FR (B) ($n = 3$). Pour la représentation graphique, les MPO dont toutes les teneurs étaient $< \text{LQ}$ n'étaient pas représenté. Pour les autres, si la teneur était inférieure à la LQ, sa valeur était utilisée.

Les résultats ont indiqué que les teneurs en ETM dans les parties aériennes de *P. australis* des deux FPR étaient plus importantes dans la zone amont, et cela était moins visible pour les MPO émergents. Cette exportation pourrait être due à une absorption plus élevée des plantes en amont. Le bilan complet de l'absorption des ETM et MPO dans les différentes parties de *P. australis* permettra de valider ces observations. Toutefois, dans une zone humide aménagée traitant des eaux de lixiviat de décharge, Salem et al. (2014) ont révélé une accumulation d'ETM plus importante dans les tissus de *P. australis* en amont, lieu d'alimentation du filtre en eau. Schmitt et al. (2015) ont également observé cette tendance pour le Zn, Pb et Cu. Ainsi, les teneurs plus élevées dans les substrats d'OGEP impacteraient l'absorption des ETM par les roseaux. Klink et al. (2019) n'ont en revanche pas révélé cette tendance pour les ETM. Pour les MPO, bien qu'ils n'aient pas été étudiés en contexte d'eaux pluviales, Cui et al. (2015) et Minkina et al., (2022) avaient révélé que plus le sol était contaminé, plus *P. australis* accumulait des HAP. Cette espèce semble donc accumulatrice mais pas hyperaccumulatrice puisque les teneurs en ETM ne dépassaient pas les seuils définis par Krämer (2010).

Afin de savoir si ces masses de roseaux exportées pourraient être valorisées ou être considérées comme des déchets à gérer, ces teneurs peuvent être comparées à des seuils. Le Tableau 3.13 synthétise deux documents, une norme (NF U44-051, AFNOR, 2006) et un label écologique de l'Union Européenne (Commission Européenne, 2022) indiquant des valeurs seuils à ne pas dépasser afin d'utiliser des déchets verts comme amendement organique. Il révèle que les teneurs en ETM et quelques HAP ciblés étaient bien en dessous des seuils définis, qui étaient 6 à 291 fois plus élevés. Le Zn était le micropolluant le plus proche des teneurs seuils mais restait 6 à 12 fois plus faible. Cela indique qu'il pourrait être envisageable de valoriser les parties aériennes de *P. australis* une fois faucardées.

Tableau 3.13 : Comparaisons des teneurs moyennes des deux FPR (mg/kg) avec des seuils définis (AFNOR, 2006 ; Commission Européenne, 2022) pour l'utilisation de végétaux comme amendement organique.

| Composé | FPR moyenne | Norme NF U 44-051 | Ecolabel européen |
|------------------------------|-------------|-------------------|-------------------|
| Cd (mg/kg) | 0,025 | 3 | 1 |
| Cr (mg/kg) | 0,41 | 120 | 100 |
| Cu (mg/kg) | 4,63 | 300 | 200 |
| Ni (mg/kg) | 0,46 | 60 | 40 |
| Pb (mg/kg) | 0,69 | 180 | 100 |
| Zn (mg/kg) | 49,2 | 600 | 300 |
| Fluoranthène (mg/kg) | 0,1 | - | 4 |
| Benzo(b)fluoranthène (mg/kg) | 0,1 | - | 2,5 |
| Benzo(a)pyrène (mg/kg) | 0,1 | - | 1,5 |

XI.3.2. Exportation de micropolluants par les parties aériennes de *P. australis*

En février 2023, 2 884 kg de roseaux considérés sec (en période hivernale) ont été faucardés sur l'ensemble des deux FPR (la valeur propre à chaque filtre n'est pas connue). Il s'agit de la masse des roseaux qui a été récupérée par une entreprise externe et de celles des 6 zones d'1 m² récupérées au laboratoire. La surface totale des deux FPR étant de 1 293 m², la biomasse aérienne faucardée s'élevait alors à 2,23 kg/m². Ces résultats permettent de calculer l'exportation totale des différents micropolluants ayant eu lieu lors du faucardage à partir de leurs teneurs moyennes dans les deux FPR présentées précédemment. Les résultats sont fournis dans le Tableau 3.14. L'exportation massique des ETM était de l'ordre du g à la centaine de g : 141,9 g (Zn), 13,4 g (Cu), 1,99 g (Pb), 1,32 g (Ni), 1,19 g (Cr) et 0,07 g (Cd), soit quelques mg/m² à quelques centaines de mg/m². Celle des MPO émergents était plus faible, proportionnellement aux teneurs, avec aucune masse totale ne dépassant 1 g. Le 4-NP et 4-OP étaient les seuls supérieurs à 0,1 g (0,64 et 0,13 g respectivement) les autres MPO émergents avaient des masses comprises entre 0,003 et 0,084 g. L'estimation maximale de la somme des 16 HAP (pour 0,1 mg/kg) serait enfin de 4,6 g exportés, soit à des quantités plus importantes que les MPO émergents et le Cd, Cr, Ni et Pb. Ainsi, quelques µg/m² à quelques centaines de µg/m² de MPO émergents étaient exportés.

Les masses totales en micropolluants stockées dans les massifs filtrants des deux FPR lors de la campagne T2 sont connues (Tableau 3.14), elles permettent de connaître le **stock global en ETM et MPO des solides** des FPR (végétaux, sédiments et substrats, les ETM adsorbés/absorbés aux racines n'ont pas été quantifiés). C'est une approximation puisque 5 mois ont séparé le faucardage de la campagne T2 et que la saison n'était plus la même, impactant les teneurs dans les tissus (*Duman et al., 2007 ; Kastratović et al., 2013 ; Salem et al., 2014*). Cependant, le laps de temps étant court, ces résultats permettent tout de même de comparer le stock des deux compartiments solides.

Concernant les ETM, les résultats ont révélé que moins de 0,3 % du **stock total** de chaque FPR (substrats + sédiment + roseaux aériens) était localisé dans les parties aériennes de *P. australis*. Cela indique une très faible élimination des ETM par l'exportation des parties aériennes. Le Zn (0,3 %) puis Cd (0,1 %) puis Cu (0,07 %) étaient plus exportés dans les parties aériennes que le Pb (0,02 %), Cr (0,01 %) et Ni (0,01 %). Excepté pour le Cd, ce classement est cohérent avec celui des masses totales en ces différents ETM dans les substrats (Zn > Cu > Pb > Ni, Cr > Cd). En effet, le coefficient de corrélation de Spearman entre les masses totales dans le massif filtrant et les celles dans les parties aériennes des roseaux dans les deux FPR était de 0,83 (p-value = 0,041) indiquant une exportation proportionnelle au stock dans les FPR. La plus forte contribution des parties aériennes au stockage du Cd alors qu'il s'agit de l'ETM le moins concentré s'expliquerait par le fait qu'il s'agit d'une masse maximale dans le scénario où les teneurs seraient celles de la LQ. Plus de précision de l'appareil est alors nécessaire pour pouvoir conclure sur cet ETM.

Concernant les MPO, le NP1EC et les HAP n'ont pas été inclus dans le bilan du stock des substrats, ils ne sont donc pas discutés ici. Les résultats ont révélé que les parties aériennes de *P. australis* contribuaient plus fortement au stockage total des MPO émergents que les ETM : 0,07 à 4,8 % des MPO totaux étaient stockés dans cette partie du végétal (Tableau 3.14). La contribution de *P. australis* au stockage des MPO émergents reste tout de même faible à l'échelle des FPR. Le NP1EO (4,8 %), NP2EO (3,6 %), 4-OP (2,9 %), OP1EO (2,3 %) étaient mieux retenus dans les parties aériennes que l'OP2EO (1,1 %), le 4-NP (0,46 %) et le BPA (0,007 %). Contrairement aux ETM, ce classement était différent de celui dans les substrats des FPR (4-NP >> BPA > 4-OP > OP1EO, OP2EO, NP1EO, NP2EO > NP1EC). En effet, le coefficient de corrélation de Spearman entre les masses totales dans le massif filtrant et les celles dans les parties aériennes des roseaux dans les deux FPR était de 0,36 (p-value = 0,43) indiquant une exportation non proportionnelle au stock dans les FPR. Le BPA a été montré comme très peu exporté par les roseaux ce qui explique son très faible pourcentage. Le 4-NP, bien que très concentré dans les roseaux et substrats par rapport aux autres MPO, avait un pourcentage de contribution au stock total parmi les plus faibles. Cela indiquerait que *P. australis* n'absorberait pas ce MPO préférentiellement.

Tableau 3.14 : Bilan de l'exportation totale des ETM et MPO (AP, BPA et HAP) hors des deux filtres lors du faucardage des *P. australis* (g ou mg/m²) et comparaison avec les masses totales stockées dans les massifs filtrants (tous les substrats regroupés). (max) : lorsqu'au moins une valeur était inférieure à la LQ, la valeur de cette dernière était utilisée, le résultat correspond alors à la valeur maximum d'exportation.

| EXPORTATION FS + FR | <i>P.au</i> (mg/kg) | <i>P.au</i> (g) | <i>P.au</i> (mg/m ²) | Substrats (g) | % <i>P.au</i> |
|-------------------------|------------------------|--------------------|-------------------------------------|---------------|---------------|
| Cd (max) | 0,025 | 0,07 | 0,06 | 73,5 | 0,1 |
| Cr (max) | 0,41 | 1,19 | 0,92 | 10 689 | 0,01 |
| Cu | 4,63 | 13,4 | 10,3 | 20 010 | 0,07 |
| Ni | 0,46 | 1,32 | 1,02 | 11 979 | 0,01 |
| Pb | 0,69 | 1,99 | 1,54 | 8 085 | 0,02 |
| Zn | 49,2 | 141,9 | 109,7 | 46 813 | 0,30 |
| BPA (max) | 0,002 | 0,007 | 0,01 | 9,54 | 0,07 |
| NP1EC (max) | 0,001 | 0,003 | 0,002 | - | - |
| 4-OP | 0,047 | 0,13 | 0,10 | 4,57 | 2,9 |
| OP1EO | 0,029 | 0,084 | 0,07 | 3,52 | 2,3 |
| OP2EO | 0,005 | 0,014 | 0,01 | 1,21 | 1,1 |
| 4-NP | 0,221 | 0,638 | 0,49 | 139,5 | 0,46 |
| NP2EO | 0,011 | 0,031 | 0,02 | 0,84 | 3,6 |
| NP1EO | 0,021 | 0,061 | 0,05 | 1,19 | 4,8 |
| Chaque HAP (max) | 0,1 | 0,288 | 0,22 | - | - |
| 16 HAP (max) | 8 | 4,6144 | 3,57 | - | - |

Ces résultats révèlent donc une **faible exportation des micropolluants** lors du faucardage des FPR : 0,003 à 141,9 g ont été exportés, correspondant à entre 0,01 et 4,8 % des micropolluants stockés dans le système. *Schmitt et al. (2015)* avaient également révélé que les parties aériennes de *P. australis* représentaient moins de 0,1 % des ETM retenus dans un FPR traitant des eaux de ruissellement. Cela confirme donc le rôle mineur de ces parties dans la rétention des micropolluants véhiculés par les eaux de ruissellement. De plus, en absolu (g), les ETM étaient plus exportés que les MPO en raison de leurs plus fortes teneurs dans le massif filtrant, et de la dégradation des MPO mais en relatif (% du total) ils étaient moins absorbés par les parties aériennes de la plante que les MPO, impliquant une fraction des ETM exportée plus faible par rapport au stock total d'ETM dans l'ouvrage. D'autres auteurs avaient révélé une capacité d'absorption plus importante des HAP par *P. australis* que des ETM, les facteurs de bioconcentration et de translocation étaient plus importants (*Cui et al., 2015 ; Olisah et al., 2021*). Cela révèle donc que *P. australis* aurait un plus grand rôle dans l'élimination des MPO que des ETM lors de son faucardage.

La fraction d'ETM stockée dans les parties aériennes de *P. australis* était proportionnelle au stock dans les substrats, indiquant une absence de sélection d'ETM par *P. australis*, seule la concentration a joué sur le stock dans la partie aérienne (pour rappel, corrélation de 0,83). En revanche, la répartition des MPO émergents stockés par *P. australis* était différente de celle des substrats (corrélation de 0,36), indiquant une **sélection** des MPO par le métabolisme des *P. australis*. Cui et al. (2015), Sushkova et al. (2021) et Minkina et al. (2022) avaient également révélé que l'absorption d'HAP n'était pas toujours proportionnelle aux teneurs dans les sols, les propriétés du polluant impactaient également leur absorption.

XI.4. Caractérisation et évolution des communautés microbiennes des substrats et sédiments

Après avoir évalué l'évolution spatio-temporelle des micropolluants dans les deux FPR et montré des différences selon la localisation horizontale et verticale mais également avec le temps, cette évolution est maintenant étudiée pour les communautés microbiennes autochtones des différents substrats des FPR (sédiment, sable de surface, Rc et sable profond). L'abondance, les fonctions ainsi que la diversité génétique ont été étudiés au travers de différentes mesures, dont les résultats sont à présent révélés.

XI.4.1. Abondance bactérienne et fongique

Afin d'évaluer la biomasse bactérienne puis fongique, la méthode statistique du Nombre le Plus probable (NPP) a été utilisée. Elle permet d'estimer une quantité d'individus à partir de la coloration ou non de puits ensemencés avec une suspension bactérienne de plus en plus diluée. Il s'agit donc d'une méthode de comptage indirect, contrairement à un dénombrement direct du nombre de cellules.

L'évolution spatio-temporelle de l'**abondance bactérienne** (bactéries cultivables en milieu LB liquide) est représentée sur la Figure 3.18. Les données brutes sont fournies dans l'Annexe 3-18.

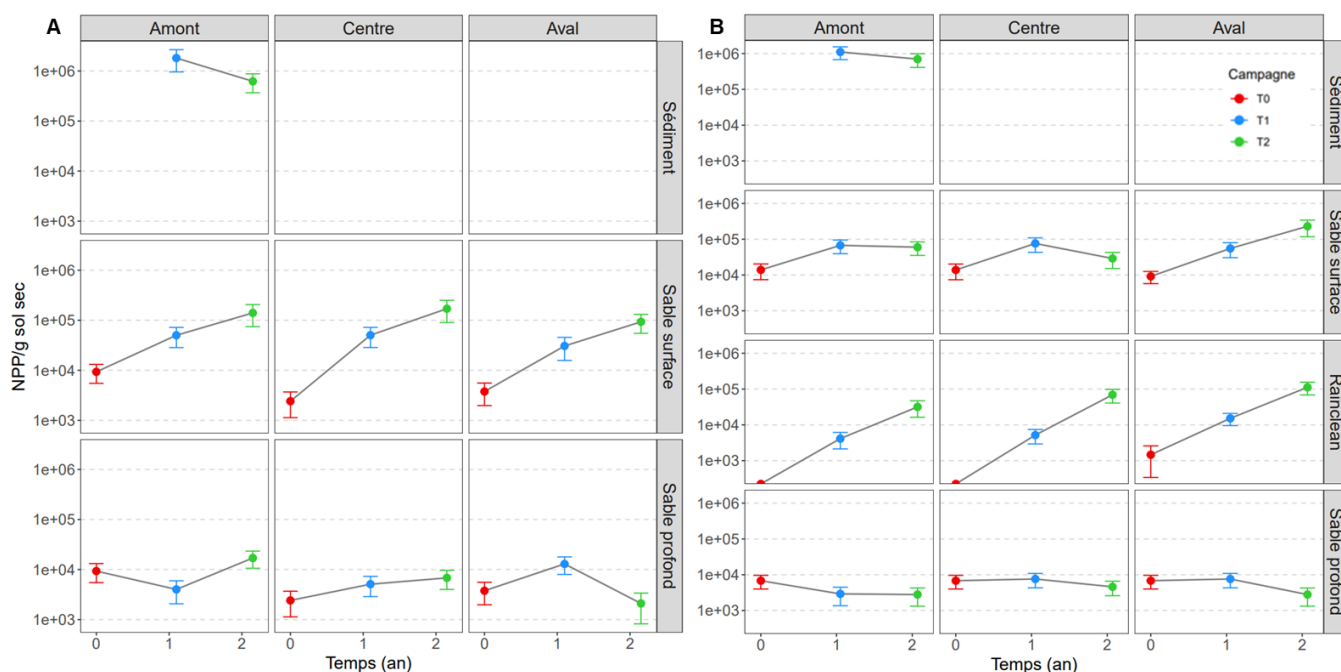


Figure 3.18 : Evolution spatio-temporelle de l'abondance bactérienne (NPP/g sec) selon les différents échantillons. A : Filtre FS ; B : Filtre FR. L'évolution selon la localisation horizontale (amont, centre et aval) est représentée de gauche à droite tandis que celle de la localisation verticale (sédiment, sable de surface, Rc, sable profond) est représentée de haut en bas. L'évolution selon le temps est représentée avec les couleurs dans chaque graphique. Les données sont représentées en échelle logarithmique, avec la moyenne de 3 répétitions pour chaque échantillon et les barres représentent l'écart-type associé.

Initialement, le sable et le Rc présentait une faible abondance, voire nulle pour le Rc. Puis, une augmentation significative de l'abondance bactérienne a été observée dans le **sable de surface** et le **Rc** avec le **temps**. Les différences étaient significatives entre les T0, T1 et T2 pour tous les sables de surface de FS (exemple en amont : $9,3.10^3 < 5,0.10^4 < 1,4.10^5$ bactéries/g au T0, T1 et T2, p-values $< 0,015$), ainsi que pour celui en aval de FR. Pour l'amont de FR, le sable de surface était significativement plus abondant au T1 et T2 qu'au T0 ($T0 < T1 = T2$, p-values $< 0,045$) et pour le centre, il était significativement plus abondant au T1 uniquement ($T1 > T0 = T2$, p-values $< 0,037$). Ainsi, l'enrichissement en bactéries entre T0 et T2 dans le sable de surface variait entre 2,1 et 70,5. Le nombre de bactéries dans le Rc a augmenté de manière constante avec le temps dans toutes les zones, avec une abondance significativement supérieure au T2 par rapport au T1, elle-même supérieure au T0 (exemple en amont : $0 < 4,1.10^3 < 3,2.10^4$ bactéries/g au T0, T1 et T2 en, p-values $< 0,016$). En aval, le facteur d'enrichissement entre T0 et T2 était de 76,7 (seule valeur non nulle initialement). En revanche, le **sable profond** et le **sédiment** ont montré une tendance à stagner avec le temps. Aucune différence significative n'a été observée pour le sédiment de FR, tandis qu'une légère diminution significative a été notée pour celui de FS (p-value = 0,011). Aucune différence significative n'a été relevée pour le sable profond de FR, et globalement, l'abondance dans FS a peu évolué, restant autour de 10^3 bactéries/g.

En termes d'évolution spatiale, l'abondance bactérienne a présenté une **évolution horizontale** moins prononcée. Pour le **sable de surface** de FR, aucune différence significative n'a été observée entre les zones, à l'exception du T2 où l'aval était 3,8 et 7,9 fois plus riche en bactéries que les zones amont et centre (p-values $< 0,037$). Dans le filtre FS, ce sable n'a montré aucune différence significative, sauf au T0 (amont $>$ centre, p-value = 0,028). Concernant le **Rc**, une tendance à une abondance significativement plus élevée en aval du filtre a été observée pour les trois temps par rapport aux deux autres zones. Ainsi, lors du T2, l'abondance en aval était 3,5 et 1,6 fois plus élevée par rapport à l'amont et au centre respectivement ($3,2.10^4 = 6,9.10^4 < 1,1.10^5$ bactéries/g sec en amont, centre et aval, p-values $< 0,045$). En ce qui concerne le **sable profond** de FR, aucune différence significative n'a été observée entre les trois zones pour tous les points temporels (p-values $> 0,15$). Dans FS, aucune relation claire n'a été démontrée entre les zones, avec une abondance maximale en amont au T0, en aval au T1 et à nouveau en amont au T2.

En termes d'**évolution verticale**, des différences plus marquées ont été mises en évidence. Globalement, une tendance selon laquelle plus la profondeur augmente, plus l'abondance bactérienne diminue dans les FPR est révélée. Initialement, le sable de surface avait une abondance similaire au sable profond dans les deux FPR, et tous deux étaient plus abondants que le Rainclean (RC) dans le filtre FR. Cependant, dès T1, les bactéries étaient toujours les plus abondantes dans le sédiment des deux FPR (valeurs entre $6,2.10^5$ et $1,8.10^6$ bactéries/g sec aux T1 et T2 p-values $< 0,04$), suivi du sable de surface (entre $2,9.10^4$ et $2,3.10^5$ bactéries/g sec aux T1 et T2, p-values $< 0,04$). L'abondance bactérienne du Rc était ensuite plus faible au T1, mais a rattrapé les valeurs du sable de surface au T2 ($4,1.10^3$ et $1,1.10^5$ bactéries/g sec aux T1 et T2, p-values $< 0,04$). Enfin, le sable profond a présenté les abondances les plus faibles (entre $2,1.10^3$ et $1,7.10^4$ bactéries/g sec aux T1 et T2, p-values $< 0,05$). En aval de FS cependant, il a fallu attendre 2 ans pour que le sable de surface soit plus abondant que le sable profond, indiquant une évolution verticale plus faible dans cette zone.

Enfin, lors de la comparaison entre les **deux FPR**, aucune différence significative d'abondance bactérienne n'a été constatée en amont pour le sédiment et le sable de surface. Le sable de surface de FR présentait des abondances plus faibles au centre lors du T2 (p-value = 0,011) uniquement. Bien que les échantillons de sable profond ne soient pas les mêmes entre les deux FPR (30 cm de profondeur dans FS, 10 cm de profondeur dans FR, cf. V-1), les résultats étaient similaires, indiquant que dès 10 cm de profondeur, l'abondance bactérienne est faible et homogène dans le sable.

Ainsi, les résultats des abondances bactériennes peuvent être **synthétisés** comme suit :

- Augmentation de l'abondance avec le temps pour le sable de surface et le Rc, pas de variation pour le sédiment et le sable profond.
- Diminution de l'abondance de l'aval vers l'amont pour le Rc (T0, T1 et T2) et le sable de surface (T2) de FR uniquement.
- Diminution de l'abondance avec la profondeur, avec la relation sédiment $>$ sable de surface \geq RC $>$ sable profond.

- Abondances similaires entre les deux FPR.

L'évolution spatio-temporelle de l'**abondance fongique** (champignons cultivables dans un milieu d'extrait de malt liquide) est représentée dans l'Annexe 3-19 (avec les données brutes dans l'Annexe 3-18).

Concernant l'**évolution dans le temps**, les champignons ne se sont pas développés de la même façon que les bactéries et selon les substrats. En effet, 3 tendances ont été observées : (1) l'abondance fongique du **sédiment** a significativement diminué entre T1 et T2 ($1,8-2,3 \cdot 10^4$ à $2,2 \cdot 10^3$ champignons/g au T2 dans les deux FPR, p-values < 0,011). (2) L'abondance fongique du **sable de surface** des deux FPR était significativement plus élevée uniquement au T1 (exemple dans FS : entre 1806 et 7795 champignons/g au T1 contre 0 aux T0 et T2, p-values < 0,028) excepté pour l'aval du filtre FR où elle n'était pas différente entre T1 et T2 (p-value = 0,12). (3) L'abondance fongique du **RC et sable profond** n'a significativement pas évolué en deux ans (T0=T1=T2, par exemple en amont du Rc, 0, 598 et 0 champignons/g ont été dénombrés au T0, T1 et T2, p-values > 0,84). Ainsi, c'était lors de la campagne T1 que les champignons cultivables ont été les plus quantifiés (sédiment et sable de surface surtout).

Concernant l'**évolution horizontale**, aucune différence significative n'a été mise en évidence selon les zones (p-values > 0,076), indiquant une absence d'impact de ce facteur. En revanche, en termes **évolution verticale**, la même tendance à la diminution de l'abondance avec la profondeur a été constatée. Au temps T0, aucune différence ne s'observait entre les différents substrats d'une même zone (aucun champignon dénombré dans la majorité des cas) mais des différences s'observaient à partir de T1. En effet, le sédiment et le sable de surface contenaient toujours plus de champignons que le Rc et sable profond, surtout au T1 : 18 012-22 929 champignons/g dans le sédiment au T1, 1 806-7 795 champignons/g dans le sable de surface au T1, 0-598 champignons/g pour le Rc et sable profond au T1 (p-values < 0,044). La différence entre le sédiment et sable de surface était significative uniquement dans le filtre FS (p-values < 0,028) aux T1 et T2. Le Rc et sable profond étaient les substrats les plus pauvres en champignons, et les abondances n'étaient pas différentes (p-values > 0,5),

Enfin, les **deux FPR** n'ont montré aucune différence d'abondance entre les mêmes types d'échantillons (p-values > 0,07), seul le sable de surface de la zone aval de FR était significativement plus abondant que celui de FS lors de la campagne T2 (p-value < 0,011).

Ainsi, les résultats des abondances fongiques peuvent être **synthétisés** comme suit :

- Diminution de l'abondance dans le sédiment, augmentation dans le sable de surface uniquement au T1 et absence d'évolution dans le temps pour le RC et sable profond.
- Pas de différence claire entre les trois zones des deux FPR.
- Diminution de l'abondance avec la profondeur surtout au T1 puis T2, avec sédiment \geq sable de surface > Rc = sable profond.
- Abondances similaires entre les deux FPR.

Les bactéries cultivables dominaient ainsi sur les champignons cultivables dans les différents échantillons. Le rapport des abondances fongiques et bactériennes au T1 dans les échantillons quantifiés (différents de 0) variait selon les substrats, entre 62 et 79 dans le sédiment, entre 4 et 28 dans le sable de surface, entre 7 et 26 dans le Rc et entre 9 et 13 dans le sable profond. Ainsi, les bactéries étaient bien plus abondantes que les champignons dans le sédiment, dominaient mais plus faiblement et de la même façon dans le sable de surface et le Rc et les différences étaient plus faibles dans le sable profond. Dans des couches de surface de sols naturels, le rapport était similaire à celui du sable de surface (entre 8 et 10) (*Preusser et al., 2019*).

XI.4.2. Fonctions

L'évaluation des fonctions des communautés microbiennes des FPR permet une compréhension de ce qu'elles sont capables d'accomplir (*Weber, 2016*). Cela vise à établir le profil de la fonction globale d'une communauté microbienne sur des transformations métaboliques.

XI.4.2.1. Dosage d'activités enzymatiques : activité métabolique

Les enzymes du sol jouent un rôle important dans les cycles biogéochimiques (azote, carbone et phosphore par exemple) notamment par la transformation de matières organiques en nutriments (Godden, 1998 ; Asensio et al., 2010). Pour les trois campagnes de prélèvement, sept activités enzymatiques ont été dosées dans les différents échantillons. Deux sont des dosages permettant d'apprécier l'activité enzymatique globale : le dosage de l'hydrolyse de la fluorescéine diacétate (HFDA) et de l'activité déshydrogénase. Le premier représente l'activité hydrolytique microbienne totale tandis que le second représente la mesure directe de l'activité microbienne du sol en relation avec la minéralisation et la formation de substances humiques (Bueis et al., 2018). Deux dosages permettent ensuite d'évaluer les activités enzymatiques représentatives du cycle du carbone : α - et β -glucosidase. Deux dosages permettent d'évaluer les activités enzymatiques représentatives du cycle du phosphore : phosphatase acide et basique. Enfin, une activité permet d'évaluer l'activité enzymatique représentative du cycle de l'azote : l'uréase. Les résultats de l'évolution dans le temps et l'espace d'une activité enzymatique globale (HFDA) et d'une activité représentative d'un cycle biogéochimique (uréase) sont représentés sur les Figure 3.19 et Figure 3.20. Les autres activités ont une dynamique similaire mais des échelles de valeur différentes, elles sont représentées en Annexes 3-20, 3-21 et 3-22. Les résultats révèlent une évolution des activités enzymatiques différente selon le temps et la localisation (verticale et horizontale) dans les FPR.

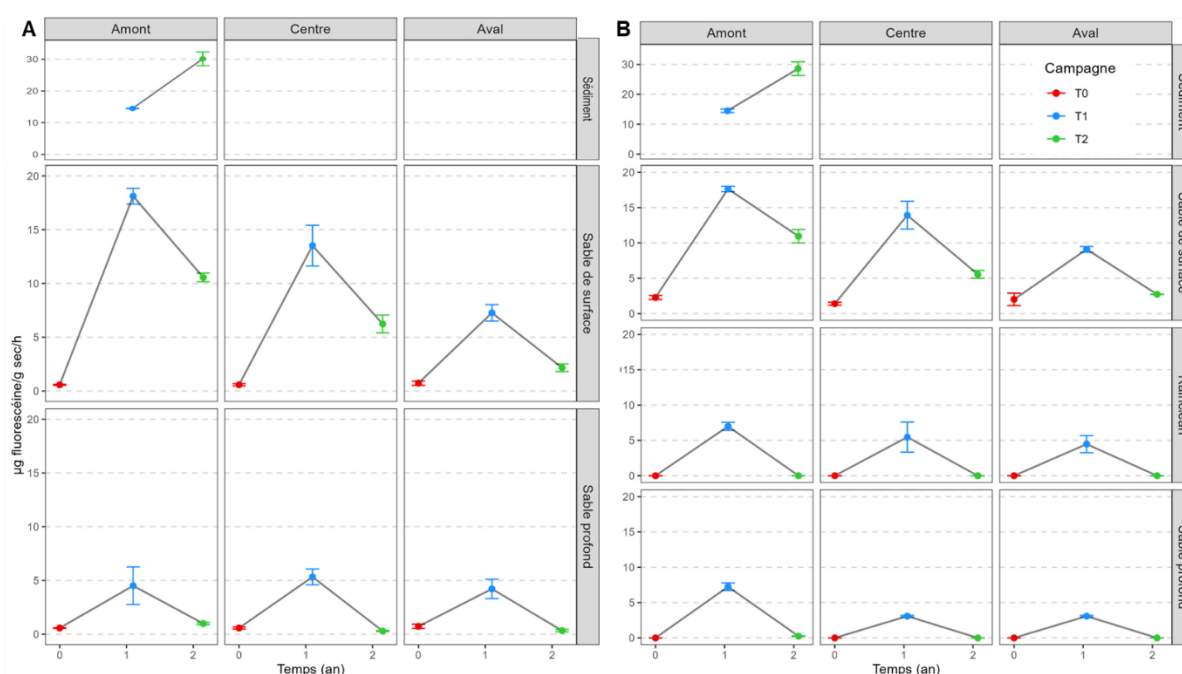


Figure 3.19 : Evolution spatio-temporelle de l'hydrolyse de la FDA ($\mu\text{g}_{\text{Fluorescéine}}/\text{g sec/h}$) selon les différents échantillons de substrats. A : Filtre FS ; B : Filtre FR. L'évolution selon la localisation horizontale (amont, centre et aval) est représentée de gauche à droite tandis que celle de la localisation verticale (sédiment, sable de surface, Rc, sable profond) est représentée de haut en bas. L'évolution selon le temps est représentée avec les couleurs dans chaque graphique. L'échelle est similaire pour tous les échantillons sauf pour le sédiment. Chaque point correspond à la moyenne de 3 répétitions et les barres représentent l'écart-type associé.

Tout d'abord, concernant **l'évolution au cours du temps**, les différences étaient surtout marquées dans le sédiment et le sable de surface, puis dans le Rc et enfin dans le sable profond. Dans le **sédiment**, toutes les activités ont significativement augmenté entre T1 et T2 (exemple pour l'HFDA dans FR : de 14,5 à 28,6 $\mu\text{g}_{\text{Fluorescéine}}/\text{g/h}$; β -glucosidase dans FS : de 93,5 à 366,3 $\mu\text{gPNP}/\text{g/h}$, p-values < 0,011) (Annexe 3-21 et 3-22). Quelques activités dans le filtre FR n'ont pas montré cette tendance : l'activité uréase a stagné (p-value = 0,16) et la déshydrogénase a significativement diminué entre T1 et T2 (p-value = 0,011). Les facteurs d'enrichissement entre T1 et T2 étaient les plus élevés pour la β -glucosidase (3,9 à 4,4) et l'HFDA (2,0 à 2,1).

Pour le **sable de surface**, une tendance à l'augmentation de l'activité enzymatique a été aussi observée avec le temps (T0<T1<T2) pour toutes les activités spécifiques de cycles biogéochimiques (Figure 3.20

et Annexe 3-20.2 et 3-20.3). Par exemple, l'uréase au T0, T1 et T2 en amont de FS est passée de 10,6 à 32,3 à 183,9 $\mu\text{gNH}_4/\text{g/h}$ (p -values $< 0,016$) ; Cette augmentation était plus marquée entre T1 et T2 qu'entre T0 et T1, avec des facteurs d'enrichissement (toutes les activités) variant de 1,5 à 199 entre T0 et T1 et de 1,1 à 4081 entre T1 et T2. Deux exemples concrets sont la phosphatase basique en amont de FS, montrant une activité 3,9 fois plus importante au T1 qu'au T0, et 8,6 fois plus importante au T2 qu'au T1. Pour la β -glucosidase en amont de FS, l'activité était 1,5 fois plus importante au T1 qu'au T0, et 8,4 fois plus importante au T2 qu'au T1. Cependant, les activités enzymatiques globales (HFDA et déshydrogénase) n'ont pas suivi la même tendance. Bien qu'une augmentation significative des deux activités ait été observée entre T0 et T1 (par exemple de 2,3 à 17,6 $\mu\text{gFluorescéine}/\text{g/h}$ dans FR pour l'HFDA ou de 0,03 à 1,05 $\mu\text{gTPF}/\text{g/h}$ dans FS pour la déshydrogénase, p -values $< 10^{-4}$), une diminution significative a été mesurée au T2 par rapport au T1 (Figure 3.19 et Annexe 3-20.1, p -values $< 0,045$), à l'exception de la déshydrogénase en amont de FR qui est restée stable. Les activités au T2 étaient tout de même supérieures à celles du T0 (p -values $< 0,015$), sauf pour deux échantillons où l'activité était similaire (pour l'HFDA en aval de FR et pour la déshydrogénase au centre de FS).

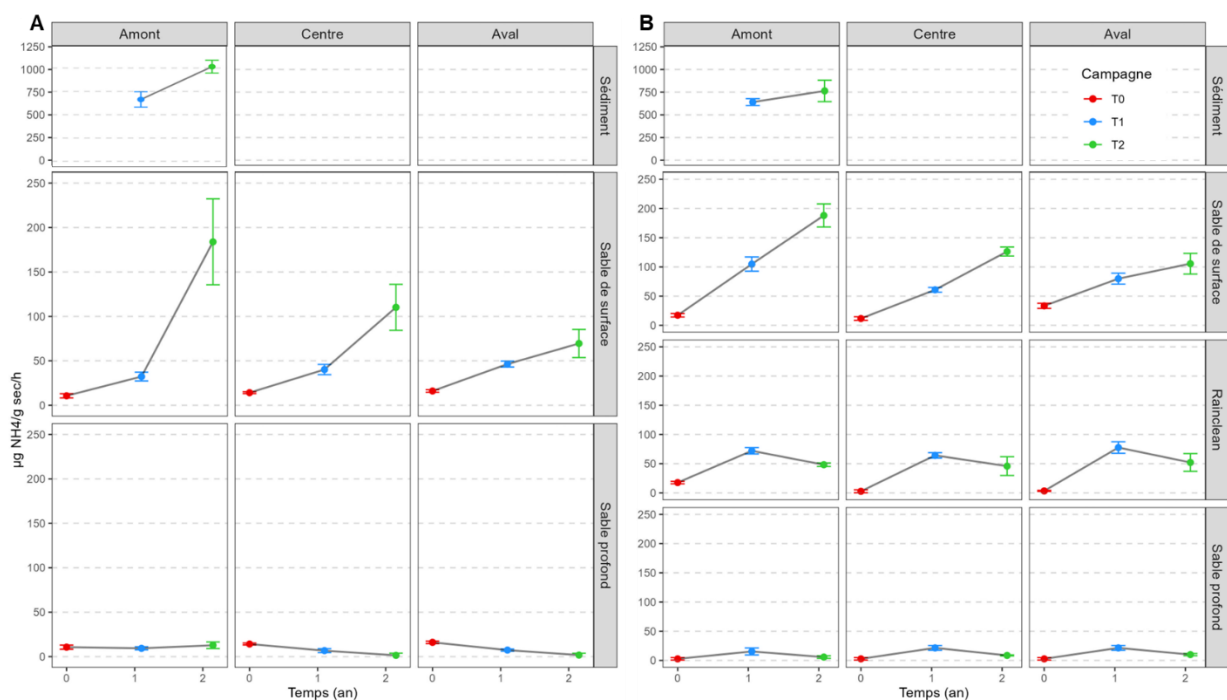


Figure 3.20 : Evolution spatio-temporelle de l'activité uréase ($\mu\text{gNH}_4/\text{g sec/h}$) selon les différents échantillons de substrats. A : Filtre FS ; B : Filtre FR. L'évolution selon la localisation horizontale (amont, centre et aval) est représentée de gauche à droite tandis que celle de la localisation verticale (sédiment, sable de surface, Rc, sable profond) est représentée de haut en bas. L'évolution selon le temps est représentée avec les couleurs dans chaque graphique. L'échelle est similaire pour tous les échantillons sauf pour le sédiment. Chaque point correspond à la moyenne de 3 répétitions et les barres représentent l'écart-type associé.

Au sein du **Rc**, les tendances étaient moins distinctes, et l'évolution temporelle des activités était plus modérée. D'une part, les activités HFDA et uréase ont toutes deux significativement augmenté entre T0 et T1 (p -values $< 0,00049$), puis ont diminué entre T1 et T2 (p -values $< 0,045$) (Figure 3.19 et Figure 3.20). L'activité de l'HFDA est redevenue égale à celle au T0 (par exemple, 0 puis 7,0 puis 0 $\mu\text{gFluorescéine}/\text{g/h}$ en amont), tandis que l'activité de l'uréase est restée significativement supérieure à celle du T0 (par exemple, 17,6 puis 72,0 puis 48,2 $\mu\text{gNH}_4/\text{g/h}$ en amont). D'autre part, les activités de la déshydrogénase et de la phosphatase basique ont globalement augmenté avec le temps. L'activité déshydrogénase dans les trois zones a significativement augmenté entre T0 et T1 (par exemple de 0 à 1,26 $\mu\text{gTPF}/\text{g/h}$ en amont, p -values $< 0,036$), puis a stagné entre T1 et T2 (de 1,26 à 1,65 $\mu\text{gTPF}/\text{g/h}$ en amont, p -values $> 0,32$), à l'exception de la zone en aval où une augmentation significative a été observée (de 0,54 à 1,44 $\mu\text{gTPF}/\text{g/h}$ entre T1 et T2, p -value = 0,0061). Pour la phosphatase basique, c'était l'inverse : l'activité a stagné entre T0 et T1 (p -values $> 0,13$), puis a significativement augmenté entre T1 et T2 pour toutes les zones (par exemple de 7,5 à 7,4 à 12,1 $\mu\text{gPNP}/\text{g/h}$ pour la zone amont,

p-values < 0,01). Enfin, les activités de l' α -glucosidase, la β -glucosidase et de la phosphatase acide n'ont pas significativement évolué avec le temps, elles sont restées égales ou très proches de zéro (p-values > 0,05) (Annexe 3-22). L'évolution temporelle la plus importante était donc pour la déshydrogénase, les facteurs d'enrichissement entre T0 et T2 variaient entre 1 212 et 1 647.

Finalement, le **sable profond** est la partie des deux FPR ayant connu la moins grande évolution, bien qu'ayant révélé certaines différences significatives au fil du temps. Tout comme le Rc, les activités de l'HFDA et de l'uréase ont eu tendance à significativement augmenter au T1 puis à diminuer au T2 (pour revenir à des valeurs proches de T0). Cependant, dans FS, l'uréase n'a que diminué avec le temps en centre et en aval, tout en stagnant en amont (par exemple, de 14,2 à 6,7 à 1,4 $\mu\text{gNH}_4/\text{g/h}$ au T0, T1 et T2 au centre, p-values < 0,013). Les activités de la phosphatase acide, basique et de la β -glucosidase ont eu tendance à augmenter avec le temps dans FS, surtout entre T1 et T2 (par exemple de 4,1 à 8,0 à 17,6 $\mu\text{gPNP}/\text{g/h}$ aux T0, T1 et T2 en amont, p-values < 0,013). Enfin, toutes les autres activités enzymatiques n'ont pas significativement évolué dans le temps (déshydrogénase et α -glucosidase dans les deux FPR, β -glucosidase et phosphatases dans FR) (Annexes 3-21 et 3-22). Les variations d'activités avec le temps étaient donc moins marquées dans ce substrat par rapport à celui de surface.

En termes d'**évolution horizontale**, initialement (T0), il n'y avait presque aucune différence significative d'activité enzymatique entre les trois zones des différents substrats. En effet, les valeurs étaient initialement très faibles, voire égales à zéro, rendant les comparaisons peu pertinentes. Cependant, une différenciation selon les zones a été révélée avec le temps, contrairement aux résultats d'abondance, et elle était surtout notable lors de la campagne T2, en particulier dans le **sable de surface**. Lors de cette campagne, toutes les activités enzymatiques dans ce substrat suivaient au minimum la relation suivante : activité en amont significativement supérieure à celle en aval (p-values < 0,040) (Figure 3.19 et Figure 3.20 et Annexe 3-20). Pour les activités HFDA, α -glucosidase, β -glucosidase, phosphatase basique et phosphatase acide (cette dernière uniquement pour FS), les activités étaient en outre significativement différentes du centre, avec l'activité en amont > centre > aval. Par exemple, l'activité de l'HFDA était entre 10,6-10,9 $\mu\text{g/g/h}$ en amont, entre 5,6-6,2 $\mu\text{g/g/h}$ au centre et entre 2,2-2,7 $\mu\text{g/g/h}$ en aval des deux FPR. Ainsi, le facteur d'enrichissement entre l'amont et l'aval des deux FPR (Tableau 3.15) variait entre 4-4,9 pour l'activité de l'HFDA, entre 2,9-23,8 pour l'activité déshydrogénase, entre 2,3-1 127 pour l'activité α -glucosidase, entre 3,6-1 682 pour l'activité β -glucosidase, entre 3,2-8,8 pour l'activité phosphatase acide, entre 3,6-4,4 pour l'activité phosphatase basique, et entre 1,8-2,6 pour l'activité uréase. Les facteurs très élevés des glucosidases sont liés au fait que les valeurs étant nulles en aval, la valeur de la plus faible concentration de la gamme a été prise pour le calcul.

Tableau 3.15 : Facteurs d'enrichissement des différentes activités enzymatiques calculés entre les résultats de la zone amont et de la zone aval lors de la campagne T2. HFDA : hydrolyse de la FDA ; Des : déshydrogénase ; Ure : uréase ; α Glu : α glucosidase ; β Glu : β glucosidase ; Ph 5 : phosphatase acide ; Ph 9 : phosphatase basique ; Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond.

| Substrat | Facteur d'enrichissement entre l'amont et l'aval au T2 | | | | | | |
|----------|--|------|-----|--------------|-------------|-------|------|
| | HFDA | Des | Ure | α Glu | β Glu | Ph 5 | Ph 9 |
| Ss-FS | 4,9 | 23,8 | 2,6 | 1126,7 | 1682,1 | 8,8 | 4,4 |
| Sp-FS | 3,0 | 1,7 | 7,4 | 69,8 | 124,4 | 1,4 | 3,2 |
| Ss-FR | 4,0 | 2,9 | 1,8 | 2,3 | 3,6 | 3,2 | 3,6 |
| Rc-FR | 1,0 | 1,1 | 0,9 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,8 |
| Sp-FR | 4,1 | 0,6 | 0,6 | 1,0 | 0,4 | 114,6 | 1,1 |

Pour le Rc, les différences horizontales étaient beaucoup moins marquées au T2, seule l'activité de la phosphatase basique était significativement supérieure en amont qu'en aval (12,1 contre 6,9 $\mu\text{gPNP}/\text{g/h}$, p-value = 0,0097) avec un facteur d'enrichissement de 1,8. Les autres activités enzymatiques n'ont montré aucune différence significative selon la localisation horizontale (p-values > 0,05), les facteurs variaient entre 0,9 et 1,1 (Tableau 3.15). Enfin, le **sable profond** a également peu évolué selon la zone, mais de façon plus importante que le Rc. L'HFDA des deux FPR et l'uréase, la β -glucosidase et la phosphatase basique dans FS étaient les activités enzymatiques ayant montré des valeurs significativement plus importantes en amont par rapport à l'aval (par exemple pour l'uréase dans FS, 12,8 contre 1,7 $\mu\text{gNH}_4/\text{g/h}$). L'uréase dans FR était la seule pour laquelle l'activité était plus

importante en aval qu'en amont (p-value = 0,010). Les facteurs entre l'amont et l'aval variaient ainsi dans les deux FPR entre 3,0-4,1 pour l'HFDA et dans le filtre FS, les facteurs étaient de 7,4 pour l'uréase, 3,2 pour la phosphatase basique et 124 pour la β -glucosidase (Tableau 3.15).

L'évolution verticale des activités enzymatiques, initialement faible au T0 (valeurs toutes proches de zéro), a montré une différenciation significative au T2. Cette tendance correspondait à celle des résultats d'abondance, indiquant que l'activité enzymatique diminuait avec l'augmentation de la profondeur. Au T2, les activités enzymatiques dans le **sédiment** étaient les plus significativement élevées pour les 7 enzymes étudiées (p-values < 0,033), suivi du sable de surface (Annexes 3-21 et 3-22). Par exemple, l'activité uréase (Figure 3.21) en amont des deux FPR était 4,1-5,5 fois plus élevée dans le sédiment (763-1 014 $\mu\text{gNH}_4/\text{g/h}$) par rapport au sable de surface (184-188 $\mu\text{gNH}_4/\text{g/h}$), et les deux autres substrats présentaient des valeurs plus faibles (48,2 $\mu\text{gNH}_4/\text{g/h}$ dans le Rc ; 5,7-12,8 $\mu\text{gNH}_4/\text{g/h}$ dans le sable profond). Le sédiment était ainsi 2,6-2,9 fois plus actif pour l'HFDA, 3,5-5,2 fois pour l' α -glucosidase, 9,3-10,9 fois pour la β -glucosidase, 3,9-4,8 pour la phosphatase acide, 3,2-4 fois pour la phosphatase basique et 8,2-31,8 fois pour la déshydrogénase par rapport au sable de surface de la zone amont.

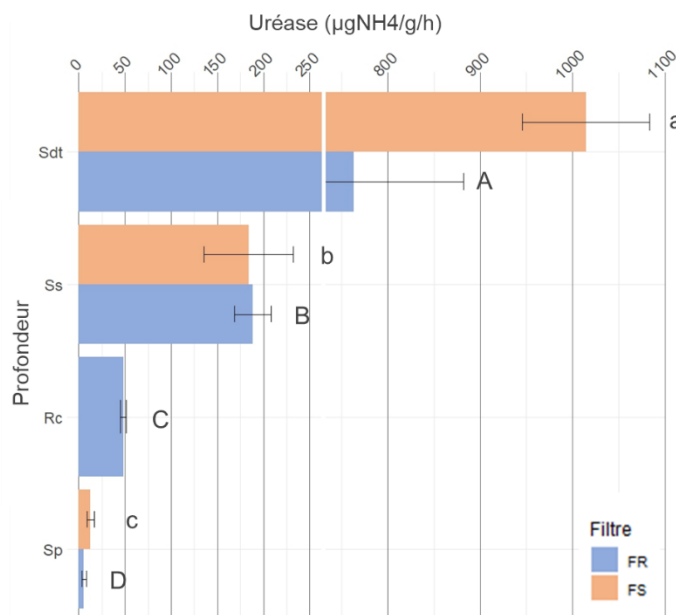


Figure 3.21 : Evolution verticale de l'activité uréase ($\mu\text{gNH}_4/\text{g/h}$) dans la zone amont des deux filtres lors de la campagne T2. Les moyennes sont représentées et les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type. Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond. Les barres d'erreur avec des lettres différentes indiquent une différence significative avec p-value < 0,05 selon le test de Kruskal-Wallis.

Au T2, le **sable de surface** était significativement plus actif que le Rc et le sable profond pour toutes les activités enzymatiques (p-values < 0,015), à l'exception de la déshydrogénase. Pour cette dernière, le Rc présentait une activité significativement égale en amont (p-value = 0,59) et supérieure au centre et aval (p-values < 0,016) par rapport au sable de surface (1,3 contre 1,6 $\mu\text{gTPF}/\text{g/h}$ en amont, 0,4 contre 1,5 $\mu\text{gTPF}/\text{g/h}$ au centre, et 0,45 contre 1,4 $\mu\text{gTPF}/\text{g/h}$ en aval, dans le sable et le Rc respectivement) (Annexe 3-21). De plus, dans FS, le sable de surface et le sable profond ne présentaient également aucune différence significative d'activité déshydrogénase au centre et en aval (p-values > 0,35) (Annexe 3-21).

Enfin, le **Rc** et le **sable profond** présentaient les activités les plus faibles. Dans le filtre FR, ils affichaient soit des activités égales (pour l' α -glucosidase et la β -glucosidase dans les trois zones, pour l'HFDA en centre et en aval, et pour la phosphatase acide en aval), soit le Rc avait une activité significativement plus élevée (pour l'uréase et la phosphatase basique dans toutes les zones, p-values < 0,019), ou alors le sable profond avait une activité significativement supérieure au Rc (pour l'HFDA en amont et pour la phosphatase acide en amont et au centre, p-values < 0,008) (Annexe 3-21 et Annexe 3-22).

Finalement, en **comparant les deux FPR** (sable de surface et sédiment), des différences significatives d'activités étaient plus fréquentes que celles observées en termes d'abondance. Pour le **sédiment**, les activités de l'HFDA (T1 et T2), l' α -glucosidase (T1 et T2), l'uréase (T1) et la phosphatase acide (T2) n'étaient pas significativement différentes entre les deux FPR (p-values > 0,058). En revanche, le filtre FS présentait des activités plus souvent significativement supérieures à celles de FR pour l'uréase (au T2, p-value = 0,011), la déshydrogénase (au T2, p-value = 0,011), la β -glucosidase (au T1 et T2, p-values = 0,011), la phosphatase acide (au T1, p-value = 0,011) et la phosphatase basique (au T1, p-value = 0,011). Dans de plus rares cas, le filtre FR avait une activité plus importante (déshydrogénase au T1 et phosphatase basique au T2, p-values < 0,030). A l'inverse, dans le **sable de surface**, le filtre FR présentait généralement des activités enzymatiques significativement plus élevées que FS. L'HFDA dans FR était plus élevée au T0 dans toutes les zones (p-values < 0,011), et au T2, elle était similaire, sauf en aval où FR était plus actif (p-value = 0,011). Pour la déshydrogénase, l'activité était plus élevée dans FR en amont au T0 (p-value = 0,009), puis dans toutes les zones au T2 (p-values < 0,011). Pour les autres activités représentatives d'un cycle biogéochimique, peu de différences étaient significatives entre les deux FPR, mais au T2, l'activité dans FR était toujours supérieure à celle de FS dans la zone aval pour l'uréase (p-value = 0,011), l' α -glucosidase (p-value = 0,003) et β -glucosidase (p-value = 0,002).

Ainsi, les résultats des activités enzymatiques peuvent être **synthétisés** comme suit :

- Augmentation des activités enzymatiques avec le temps surtout dans le sédiment et le sable de surface, et surtout celles spécifiques à un cycle biogéochimique.
- Augmentation de toutes les activités enzymatiques avec le rapprochement de la zone d'alimentation en eau pour le sable de surface essentiellement.
- Diminution importante des activités selon la profondeur, excepté pour la déshydrogénase (Rc = sable de surface), avec sédiment >> sable de surface > Rc > sable profond.
- Activités du sédiment plus élevées dans FS que FR, et inversement pour le sable de surface.

XI.4.2.2. Potentiel fonctionnel : profil physiologique

Les données collectées par les BILOG Ecoplates™ permettent de déterminer la capacité fonctionnelle des communautés microbiennes hétérotrophes à métaboliser une variété de composés organiques. Le terme profil physiologique des communautés microbiennes est également employé (« Community Level Physiological Profiling » en anglais, *Weber et Legge, 2010*). La représentation des données est réalisée par le calcul de l'AWCD (développement spécifique de l'absorbance moyenne des puits, donc indicateur d'une intensité moyenne de dégradation) et du pourcentage de sources de carbone dégradé (pourcentage total de puits dégradés ou bien selon les 5 familles de sources de carbone composant les microplaques) après 5 jours d'incubation des plaques. Ces deux indices permettent d'apprécier le potentiel fonctionnel des échantillons. Les résultats de l'évolution de l'AWCD sont présentés sur la Figure 3.22 et le pourcentage de sources totales dégradées dans l'Annexe 3-23. Les données brutes sont également fournies en Annexe 3-24.

Tout d'abord, concernant **l'évolution dans le temps**, l'AWCD et le pourcentage de puits dégradé ont montré des tendances opposées aux mesures d'abondances et d'activités enzymatiques. Les résultats ont révélé une dégradation (intensité et diversité des sources) moindre des sources de carbone aux temps T1 et T2 par rapport à T0 (Figure 3.22 et Annexe 3-23) dans les substrats. Le **sédiment** est le seul substrat où l'AWCD et le pourcentage de puits dégradé étaient similaires entre T1 et T2 (p-values > 0,067), suggérant une stabilité du potentiel fonctionnel entre ces deux périodes. Par exemple, l'AWCD variait d'entre 1,35-1,89 au T1 à 1,31-1,72 au T2.

Dans le **sable de surface**, ce potentiel fonctionnel était significativement plus élevé au T0 qu'au T1 pour tous les échantillons (AWCD et pourcentage dégradé p-values < 0,043), à l'exception de celui dans le centre de FR (AWCD similaire) (Figure 3.22 et Annexe 3-23). Par exemple, l'AWCD des deux FPR variait de 0,54-0,66 au T0 à 0,02-0,29 (à l'exception du centre de FR) au T1 à 0,18-0,60 au T2. Puis, entre T1 et T2, deux tendances étaient observées : une augmentation significative du potentiel fonctionnel pour les parties centre et aval de FS et la partie amont de FR (p-values < 0,010), ou aucune différence significative pour les autres (p-values > 0,20). Dans les deux cas, les communautés microbiennes n'ont pas retrouvé leur potentiel fonctionnel initial (T0).

Dans le **Rc**, le potentiel fonctionnel des communautés était également significativement plus élevé au T0, suivi d'une diminution significative au T1 (AWCD passant de 0,51-0,55 au T0 à 0-0,25 au T1, pourcentage dégradé passant de 48-53 % au T0 à 0-28 % au T1, p-values < 0,002) (Figure 3.22 et Annexe 3-23). Puis, entre T1 et T2, le potentiel fonctionnel a significativement augmenté (p-values < 0,043), sauf pour le pourcentage de puits en aval : l'AWCD était alors entre 0,24-0,52 et le pourcentage entre 31-42 % au T2. Bien que les communautés microbiennes n'aient également pas retrouvé leur potentiel fonctionnel initial (p-values < 0,020), les zones centre et aval ont montré des AWCD similaires entre T0 et T2 (p-value > 0,72), mais des pourcentages de dégradation différents.

Enfin, le **sable profond** présentait également un potentiel fonctionnel plus élevé initialement qu'après 1 et 2 ans de fonctionnement pour tous les échantillons (AWCD et pourcentage de dégradation p-values < 0,035). En effet, les valeurs d'AWCD sont passées de 0,54-0,56 au T0 à 0-0,16 au T1 et 0-0,27 au T2. Entre T1 et T2, le potentiel fonctionnel est resté nul dans FS, tandis qu'il a différemment évolué dans le filtre FR, avec une dynamique similaire au Rc en amont (T0 > T2 > T1, AWCD p-values < 0,013), une diminution continue au centre (T0 > T1 > T2 =, AWCD p-values < 0,06) et une absence d'évolution en aval (T0 > T1 = T2).

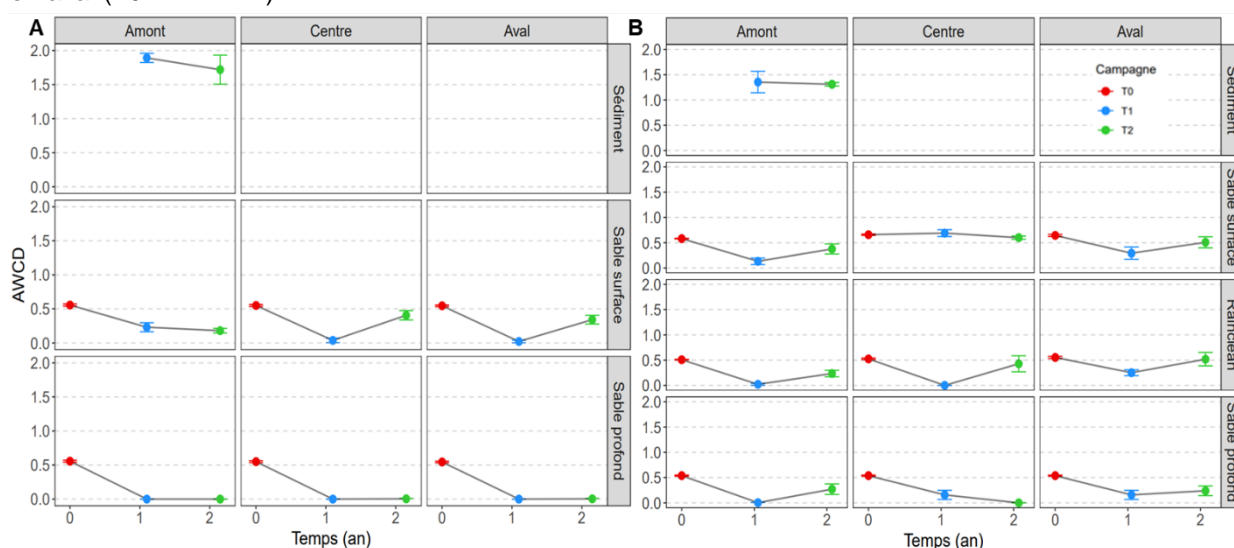


Figure 3.22 : Evolution spatio-temporelle de l'AWCD selon les différents échantillons de substrats. A : Filtre FS ; B : Filtre FR L'évolution selon la localisation horizontale (amont, centre et aval) est représentée de gauche à droite tandis que celle de la localisation verticale (sédiment, sable de surface, Rc, sable profond) est représentée de haut en bas. L'évolution selon le temps est représentée avec les couleurs dans chaque graphique. Chaque point correspond à la moyenne de 3 répétitions et les barres représentent l'écart-type associé.

Les tendances dans l'**évolution horizontale** du potentiel fonctionnel ont aussi montré des différences par rapport aux activités enzymatiques. Initialement, peu de différences étaient observées entre les zones des filtres (AWCD et pourcentage dégradé p-values > 0,13), sauf un potentiel légèrement moins élevé dans le sable de surface en amont de FR (p-values < 0,038). Au T2, une tendance globale significative a émergé. En effet, le potentiel fonctionnel était toujours significativement plus faible en amont qu'en aval, voire qu'au centre, pour le **sable de surface** et le **Rc** (Figure 3.22 et Annexe 3-23). Par exemple, dans le sable de surface de FS, l'AWCD était de 0,18, 0,41 et 0,34 en amont, centre et aval respectivement, avec le centre et l'aval étant 2,3 et 1,9 fois plus élevés que l'amont (p-value < 0,044) mais non différents entre eux. La même tendance était observée pour FR, avec l'AWCD 1,6 et 1,3 fois plus élevée au centre et aval qu'en amont (significatif qu'au centre, p-value = 0,028). Dans le Rc, l'AWCD était également significativement plus faible en amont (p-values < 0,042) et non différente entre le centre et aval, ces deux dernières zones ayant des valeurs 1,8 et 2,2 fois plus élevées qu'en amont. Les conclusions étaient similaires pour les pourcentages de dégradation. Pour le **sable profond** cependant, la tendance n'était pas uniforme : aucune différence dans FS (valeurs nulles) et un potentiel fonctionnel significativement supérieur en amont et en aval par rapport au centre dans FR (p-values < 0,032).

L'**évolution verticale** a révélé une diminution du potentiel fonctionnel avec la profondeur, suivant la tendance observée pour l'abondance et les activités enzymatiques (Figure 3.22 et Annexe 3-

23). Au T0, le filtre FR montrait une légère mais significative différence de potentiel fonctionnel dans le sable de surface (AWCD et pourcentage dégradé p-values < 0,01) par rapport au profond et au Rc qui n'étaient pas différents. Après deux ans, le sédiment affichait le potentiel fonctionnel le plus actif et diversifié (p-values < 0,01), avec une AWCD 2,2 à 4,2 fois supérieure au deuxième échantillon le plus élevé, et une dégradation presque totale des différentes sources de carbone. Puis, dans le filtre FS, le potentiel fonctionnel du sable de surface était significativement plus élevé que dans le sable profond pour toutes les zones au T2 (AWCD de 0,18-0,41 contre 0, p-values < 0,0086). Pour le filtre FR, le potentiel fonctionnel n'était pas significativement différent entre le sable de surface et le Rc pour les trois zones (AWCD de 0,38-0,60 contre 0,24-0,52) sauf au niveau du centre pour le pourcentage dégradé, plus important dans le sable de surface (48,4 contre 35,5 %, p-value = 0,006). Enfin, le sable de surface et Rc présentaient des valeurs significativement plus élevées que le sable profond (AWCD et pourcentage dégradé p-values < 0,0499), sauf en amont, où aucune différence significative n'était observée entre les trois substrats (30,1, 31,2 et 28,0 % dans le sable de surface, Rc et sable profond, p-values > 0,46).

Si les **deux FPR** sont comparés, le potentiel fonctionnel du sédiment était significativement plus élevé dans FS aux T1 et T2 (AWCD et pourcentage de puits dégradés, p-value = 0,0086), tandis que dans le sable de surface, il était généralement plus important dans FR. En effet, dès T0, le filtre FR présentait des valeurs légèrement mais significativement plus élevées, avec l'AWCD supérieure dans toutes les zones (p-values < 0,011). Lors du T2, l'AWCD était supérieure dans le filtre FR pour toutes les zones (AWCD de 0,38-0,60 contre 0,18-0,41 dans FR et FS, p-values < 0,011), indiquant une intensité de dégradation plus importante, mais aucune différence n'était observée en termes de pourcentages de dégradation, montrant une similitude dans la diversité des sources de carbone dégradées entre les deux filtres.

Pour finir, le potentiel fonctionnel **selon les familles de source de carbone** utilisées dans les microplaques (carbohydrates, polymères, acides carboxyliques, acides aminés et amines/amides) était relativement similaire entre le sédiment, Rc, sable de surface et profond (Annexe 3-25). L'ACP réalisée avec le sédiment sable de surface et Rc (le sable profond étant souvent égal à zéro, il a été retiré de l'analyse) du T2 (Annexe 3-26) n'a pas montré de relation particulière. Le hiérarchising clustering a regroupé le sédiment et sable de surface ensemble, le Rc était séparé d'eux. Il était corrélé à de plus forts pourcentages de dégradation des sources de carbone de la famille des acides aminés et des amines/amides tandis que le sédiment et sable de surface étaient plutôt corrélés aux acides carboxyliques et carbohydrates.

Dans le sable de surface, une évolution temporelle a été observée dans les FPR sur deux ans, le temps séparant les échantillons sur l'ACP (Figure 3.23A). Initialement homogène, le potentiel fonctionnel des communautés microbiennes a montré une plus grande variabilité inter-zone et inter-échantillon après deux ans, indiquant une évolution plus hétérogène de la dégradation des familles de sources de carbone dans les FPR. Cependant, l'absence d'impact de la localisation horizontale a été notée, car les trois zones se superposaient. Les communautés présentaient alors au T2 une capacité accrue à dégrader les polymères, avec une corrélation plus prononcée (mais non significative) dans la zone amont. Pour le Rc, une homogénéité initiale de la dégradation des familles a été suivie d'une différenciation après deux ans, surtout dans la zone amont (Figure 3.23B), montrant alors une corrélation plus forte avec la dégradation des polymères et carbohydrates. Les polymères étaient donc des molécules plus dégradées dans les substrats des FPR après deux ans d'alimentation.

Ainsi, les résultats du potentiel fonctionnel global peuvent être **synthétisés** comme suit :

- Diminution du potentiel fonctionnel après un an pour tous les substrats, qui tend ensuite à augmenter à des valeurs égales ou inférieures aux initiales. Le potentiel du sédiment a stagné.
- Augmentation de la capacité de dégradation des polymères dans le sable de surface et le Rc après deux ans.
- Diminution du potentiel fonctionnel avec le rapprochement de la zone d'alimentation pour le sable de surface et Rc.
- Diminution de potentiel fonctionnel (plus faible) selon la profondeur, avec sédiment > sable surface = Rc ≥ sable profond.

- Potentiel fonctionnel du sédiment plus élevé dans FS que FR, et inversement pour le sable de surface.

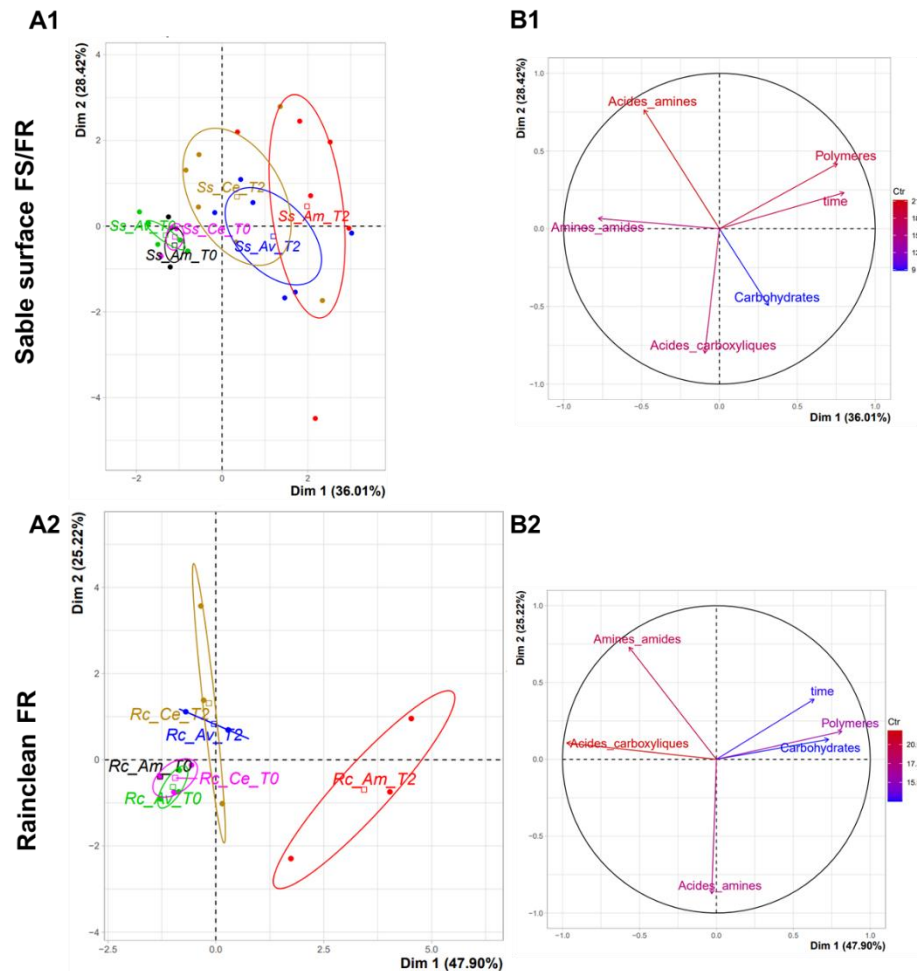


Figure 3.23 : Analyse en Composante Principale (ACP) du sable de surface et du Rc lors des campagnes T0 et T2. **A :** Graphique des individus : projection de la variabilité de l'ensemble des données sur une carte factorielle des deux premiers axes discriminants, regroupés selon la localisation horizontale et le temps. Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Am : amont ; C : centre ; Av : aval. **B :** Graphique des variables : cercle de corrélation des vecteurs des variables étudiées (les 5 familles de source de carbone et le temps). 1 : sable de surface de FS et FR regroupés ; 2 : Rainclean de FR. Les deux premiers axes expliquent 64,43 % et 73,12 % de l'inertie totale du jeu de données pour les figures 1 et 2 respectivement.

XI.4.3. Une colonisation microbienne des FPR visible avec le temps et hétérogène selon la localisation horizontale et verticale

Avant de présenter les résultats de diversité génétique des communautés microbiennes, les données d'abondance, d'activité enzymatique et de potentiel fonctionnel sont discutées. Leur **dynamique** dans le temps et l'espace a été suivie au cours de trois campagnes espacées d'environ un an.

- **Un impact significatif du temps sur la colonisation microbienne**

Premièrement, les résultats ont révélé que **l'abondance bactérienne et les activités enzymatiques étaient favorisées et stimulées avec le temps** dans les deux FPR. Après deux ans d'alimentation, le sable de surface a atteint des valeurs similaires d'abondances bactériennes que dans la couche de surface d'un bassin d'infiltration après 20 ans de fonctionnement (Winiarski, 2006). Mkhinini et al. (2020) ont montré que l'irrigation de sols avec des eaux usées permettait une augmentation de l'abondance bactérienne au long terme, en raison des teneurs élevées en matières organiques et nutriments dans les eaux. Fraser et al. (2018) ont également révélé que dans des

colonnes de sable neuf recevant des eaux de ruissellement, l'abondance bactérienne augmentait avec le temps. Dans la présente étude, le temps a donc permis la colonisation de substrats initialement inertes (sable) ou très différents d'un sol (Rc). Les coefficients de corrélation de l'abondance bactérienne avec le temps étaient significatifs et élevés pour ces deux substrats (0,81 et 0,93, p-values < 10⁻¹², Tableau 3.16). Le sable profond n'a que très peu évolué en deux ans, la corrélation n'était pas significative et l'abondance du sédiment, la plus élevée, est restée constante entre deux années.

Tableau 3.16 : Matrices de corrélation de Spearman des paramètres biologiques des différents substrats de chaque filtre selon le temps. Les coefficients de corrélation avec un * sont significatifs (p-value < 0,05) et ceux en gras sont supérieurs à 0,60. Le nombre d'échantillon utilisé pour chaque comparaison est indiqué (n = x) : pour un substrat donné, tous les échantillons sont regroupés pour réaliser la matrice (3 temps, 3 zones, 2 filtres). Une case vide signifie que la corrélation n'a pas été réalisée puisque que toutes les valeurs étaient égales à zéro. HFDA : hydrolyse de la FDA ; AWCD : absorbance moyenne des microplaques BIOLOG ; % dégradation : pourcentage de sources de carbone dégradé des microplaques BIOLOG.

| Echantillon | Sable de surface (T0-T1-T2) n = 54 | Rc (T0-T1-T2) n = 27 | Sable profond (T0-T1-T2) n = 54 |
|------------------------------|--|----------------------------|---------------------------------------|
| Corrélation | Temps | Temps | Temps |
| HFDA | 0,50 * | 0,00 | 0,00 |
| α-glucosidase | 0,57 * | | -0,38 * |
| β-glucosidase | 0,59 * | -0,24 | 0,31 * |
| Phosphatase acide | 0,89 * | 0,00 | 0,74 * |
| Phosphatase basique | 0,86 * | 0,57 * | 0,48 * |
| Déshydrogénase | 0,28 * | 0,86 * | 0,05 |
| Uréase | 0,89 * | 0,48 * | -0,11 |
| Abondance bactérienne | 0,81 * | 0,93 * | -0,10 |
| Abondance fongique | 0,12 | 0,00 | 0,00 |
| AWCD | -0,39 * | -0,26 | -0,71 * |
| % dégradation | -0,57 * | -0,49 * | -0,70 * |

Pour les champignons, le temps a permis leur développement au T1, mais pas au T2. Leur fluctuation était donc plus importante que les bactéries dans les FPR et aucune corrélation significative n'a été obtenue avec le temps (p-values > 0,37). Les communautés fongiques sont généralement plus sensibles aux variations des paramètres environnementaux que les bactéries (*Pietikäinen et al., 2005*). L'humidité peut impacter l'abondance fongique dans des sols, les communautés tendent à être plus abondantes en condition de sécheresse que d'humidité (*Cazelles et al., 2013 ; Hawkes et al., 2011*). Cependant, l'Annexe 3-27 relève qu'il n'y avait pas de différence d'humidité entre les deux campagnes (les eaux claires semblent alimenter les FPR non prioritaires également). Un autre facteur pouvant expliquer cette abondance plus faible au T2 est la température, qui était en moyenne significativement (p-value < 0,04) plus faible la semaine précédant la campagne T2 par rapport à T1 pour les deux FPR (Annexe 2-3). La méthode de quantification des champignons ne semblait également pas assez sensible pour les quantifier.

Concernant les activités enzymatiques, une augmentation continue de celles spécifiques à des cycles biogéochimiques a été observée surtout dans le sédiment et le sable de surface, puis dans le Rc et enfin dans le sable profond. Les activités enzymatiques globales ont également augmenté avec le temps, mais une diminution a été observée entre T1 et T2, à l'exception du Rc pour la déshydrogénase et du sédiment dont les activités ont continué d'augmenter. La colonisation des FPR par les microorganismes s'est donc accompagnée d'un métabolisme plus actif avec le temps : toutes les activités enzymatiques du sable de surface étaient positivement corrélées avec le temps (coefficients entre 0,28 et 0,50 pour les activités globales, entre 0,57 et 0,89 pour les activités spécifiques, p-values < 0,044, Tableau 3.16), les phosphatases et l'uréase étant les plus corrélées et les activités enzymatiques globales étant les moins corrélées. Dans le Rc et sable profond, moins d'activités étaient significativement corrélées avec le temps et les coefficients étaient plus faibles. La déshydrogénase

était l'activité la plus corrélée avec le temps dans le Rc (0,86, p-value = 10^{-9}) tandis qu'il s'agissait de la phosphatase acide dans le sable profond (0,74, p-value = 10^{-10}).

L'augmentation des activités enzymatiques, peut être attribuée à l'apport de composés organiques et de nutriments par les eaux de ruissellement (révélé dans le Tableau 3.1), ainsi qu'à la croissance des *P. australis* (augmentation de la biomasse avec le temps, données non présentées). Ces conclusions sont en accord avec les résultats de *Jiang et al. (2019b)* dans des colonnes simulant un système de biorétention recevant des eaux de ruissellement synthétiques, ainsi que ceux de *Mkhinini et al. (2020)* et *Elifantz et al. (2011)* dans un contexte d'eaux usées. Une étude a observé des activités enzymatiques plus faibles après une longue exposition à des eaux usées (*Subrahmanyam et al., 2016*), cela souligne la nécessité d'évaluer le métabolisme des communautés microbiennes des deux FPR à plus long terme. Les variations des conditions météorologiques entre les campagnes T1 et T2 (température plus faible une semaine avant T2) pourraient expliquer l'absence d'augmentation des activités enzymatiques globales, malgré une augmentation des activités spécifiques aux cycles biogéochimiques qui ne semblent pas impactées. Ou bien, des interférences lors du dosage des activités globales aurait pu avoir un effet inhibiteur (homogène entre l'HFDA et la déshydrogénase seulement). Ces résultats soulignent donc que le dosage d'activités enzymatiques globales ne résume pas à lui seul les activités enzymatiques spécifiques des échantillons, contrairement à certaines observations antérieures (*Green et al., 2006* ; *Bueis et al., 2018* ; *Kumar et al., 2013*). L'HFDA restait tout de même positivement corrélée aux activités spécifiques (coefficients de corrélation de Spearman entre 0,77 et 0,93, p-values < 0,027).

Lors de la campagne T2, l'uréase puis la phosphatase basique ont maintenu leur dominance quel que soit le substrat, tandis que les activités enzymatiques globales étaient les plus faibles. Les activités des cycles de l'azote et du phosphore ont montré une stimulation plus marquée que le cycle du carbone, similaire à ce qui a été observé dans des contextes d'irrigation en eaux usées (*Swiontek Brzezinska et al., 2016* ; *Subrahmanyam et al., 2016*) et pouvant être relié aux apports de composés organiques et nutriments par les eaux de ruissellement. Les couches de surface (sédiment et sable) présentaient ensuite une activité plus élevée de la β -glucosidase, tandis que la déshydrogénase était plus prédominante dans le Rc. Les apports plus importants de carbone en surface pourraient expliquer ces différences de métabolisme du carbone entre les substrats. De plus, le pH élevé du Rc pourrait contribuer aux faibles activités de la β -glucosidase, étant généralement moins active en milieu alcalin (*Adetunji et al., 2017*). La prédominance de la phosphatase basique par rapport à l'acide est attribuable aux substrats tous alcalins, tandis que la β -glucosidase est souvent plus active que l' α -glucosidase, comme observé dans d'autres études (*Swiontek Brzezinska et al., 2016* ; *Eivazi et Tabatabai, 1990*).

Comparativement, l'évaluation des activités enzymatiques dans les OGEP présente des défis, étant donné le manque d'études dans ce domaine (*Neto et al., 2007* ; *Jiang et al., 2019b* ; *2019a* ; *Guo et al. 2019*), avec une seule étude repérée dans des FPR pour le traitement des eaux de ruissellement (*Gilbert et al., 2012*). Les données brutes étant souvent omises dans les articles, *Gilbert et al. (2012)* ont rapporté une activité enzymatique globale (HFDA) entre 44 et 54 $\mu\text{g}_{\text{fluoresceine}}/\text{g}/\text{h}$ dans des sédiments de FPR âgés de 20 ans, surpassant les valeurs de la présente étude. Le maintien de l'augmentation de l'activité globale du sédiment pourrait être attendue avec une alimentation prolongée. Les autres activités enzymatiques se comparent à des références les plus proches possibles du contexte d'étude. L'activité de l'HFDA dans le sédiment et le sable de surface après 2 ans d'alimentation est similaire à celle observée dans des sols après 20 ans d'alimentation en eaux usées (*Mkhinini et al., 2020*) et dans un sol calcaire (*Bueis et al., 2018*). Bien que la déshydrogénase soit notablement plus élevée dans le sédiment, celle dans le sable de surface est comparable à l'étude de *Mkhinini et al. (2020)*. L'activité élevée de l'uréase dans divers substrats, à l'exception du sable profond, par rapport à la littérature (*Andreoni et al., 2004* ; *Zhou et al., 2005* ; *Bueis et al., 2018* ; *Mkhinini et al., 2020*) suggère un impact significatif des eaux de ruissellement sur le métabolisme de l'azote. En outre, la forte activité enzymatique observée dans les FPR, comparée à d'autres sols, semble être stimulée par les charges de carbone organique transportées par les eaux de ruissellement (*Burns et Ryder, 2001*).

Ainsi, bien que les substrats étaient initialement caractérisés par une faible activité microbienne, une colonisation progressive des substrats des FPR a donc eu lieu avec le temps, les populations étaient plus nombreuses et plus actives en termes d'activités enzymatiques. En revanche, les résultats des profils physiologiques des communautés hétérotrophes ont montré une **tendance inverse avec le temps**, le potentiel fonctionnel du sable et Rc était réduit par l'alimentation des FPR, mais pas celui du sédiment. Bien que peu propices au développement microbien au départ, le sable et le Rc ont donc montré une dégradation plus étendue et intense des diverses sources de carbone avant l'alimentation des FPR. De plus, même si certains substrats ont vu leurs communautés redevenir plus actives après 2 ans d'alimentation, les valeurs d'AWCD et de puits dégradés restaient majoritairement inférieures à celles mesurées initialement, elles étaient sinon égales. L'alimentation en eau a donc **négativement impacté le potentiel fonctionnel** du sable de surface, Rc et sable profond **avec le temps**, surtout au T1. Les coefficients de corrélations étaient tous négativement et significativement corrélés avec le temps (coefficients entre -0,39 et -0,71, p-values < 0,0038), sauf pour l'AWCD dans le Rc (p-value = 0,19). Le sable profond était le plus fortement corrélé avec le temps tandis que celui de surface et le Rc avaient de faibles coefficients, lié à l'augmentation entre T1 et T2.

Le carbone organique est pourtant admis comme un paramètre jouant sur le potentiel fonctionnel (Gomez et al., 2006 ; Li et al., 2018 ; Qiu et al., 2023), et il augmentait dans le sable de surface. Il n'explique donc pas l'évolution observée. Aucune étude en contexte de ruissellement urbain n'a évalué l'évolution du potentiel fonctionnel avec le temps. Cependant, dans des sols irrigués à court ou long terme par des eaux usées, Mkhinini et al. (2020) ont observé une diminution du potentiel fonctionnel à court terme, suivi d'une augmentation avec une irrigation à long terme (20 ans d'alimentation). Chazarenc et al. (2010) ont aussi démontré que, dans une zone humide traitant des eaux usées, l'âge de la structure était le deuxième facteur influençant le potentiel fonctionnel, avec la saison en tant que premier facteur. Le potentiel le plus élevé a été enregistré dans la structure la plus ancienne (8 ans d'alimentation). La diminution initiale du potentiel fonctionnel observée au début du fonctionnement des FPR dans le sable et le Rc serait alors attribuée à la charge en polluants des eaux de ruissellement donc l'accumulation a été démontré. Cette observation est en accord avec des études antérieures montrant que l'amendement en ETM dans les sols réduit leur potentiel métabolique Knight et al. (1997) et Weber, et al. (2008).

Avec le temps et l'alimentation continue en eaux de ruissellement, une sélection des microorganismes les plus tolérants à ces conditions serait alors attendue favorisant ainsi l'augmentation du potentiel fonctionnel observé dans des études au long terme. Ce phénomène est associé à la résilience des communautés microbiennes après une perturbation initiale, telle que le début de l'alimentation en eaux (Griffiths et Philippot, 2013). Ainsi, bien qu'une colonisation des populations microbiennes ait été observée, leur potentiel fonctionnel était appauvri après deux ans d'alimentation. Cela traduirait donc une spécialisation des communautés dans certains composés ; le métabolisme enzymatique s'est révélé devenir très actif mais de façon spécifique aux apports des eaux de ruissellement donc les communautés sont devenues moins diversifiées dans leurs fonctions, mais celles qu'elles portaient étaient fortement actives. Notamment, une dégradation accrue de polymères dans le sable de surface et le Rc a été révélée, indiquant une meilleure capacité de ces communautés à dégrader des molécules plus complexes, telles que les MPO.

Enfin, le sable profond du filtre FS, bien que composé de 30 cm par rapport à celui de FR (10 cm), n'a pas présenté de dégradation des sources de carbone après un an d'alimentation, contrairement à celui dans FR. Cela suggère que le Rc joue un rôle dans la stimulation des communautés sous-jacentes.

- *Un impact significatif de la localisation horizontale sur les communautés microbiennes*

Deuxièmement, un **impact de la localisation horizontale** des échantillons a été révélé avec le temps, le potentiel fonctionnel et plus faiblement l'abondance bactérienne ont évolué selon la même tendance, tandis que les activités enzymatiques ont montré une dynamique différente.

En effet, bien que l'abondance fongique n'ait pas présenté de différences significatives entre les zones, l'abondance bactérienne dans le sable de surface et le Rc du filtre FR étaient significativement plus élevées en aval au T2, avec un facteur d'enrichissement entre 3,5 et 3,8. Aucune différence n'était cependant observée dans le sable de surface du filtre FS. Les corrélations des

abondances avec le carbone organique accumulé dans le sable de surface (indicateur de la localisation horizontale, cf. XI.1.2) n'étaient alors pas significatives, indiquant un impact limité de la localisation horizontale sur l'abondance bactérienne de ce substrat (Tableau 3.17).

En revanche, l'abondance bactérienne du Rc était significativement négativement corrélée avec la distance (coefficient de -0,79, p-value = 0,011), suggérant que la sollicitation plus importante des FPR en amont (cf. XI.1.2 et XI.2), n'a pas favorisé un développement bactérien plus important. Certains auteurs ont rapporté que les zones les plus contaminées présentaient des abondances microbiennes plus faibles (Brohon et al., 2001 ; Andreoni et al., 2004), comme observé dans FR, la zone la plus contaminée. Cependant, cette relation entre contamination et biomasse bactérienne n'était significative que dans FR, où la zone la plus sollicitée avait une biomasse similaire ou plus faible. Cela suggère un impact de la contamination malgré des apports stimulant la biomasse, et une évaluation à plus long terme pourrait révéler le développement de communautés plus résistantes en amont.

Tableau 3.17 : Matrices de corrélation de Spearman des paramètres biologiques mesurés au T2 des différents substrats de chaque filtre selon la localisation horizontale, matérialisée par les teneurs en carbone organique accumulé (Corg acc). Les coefficients de corrélation en gras avec un * sont significatifs (p-value < 0,05) et on un coefficient supérieur à 0,60. Le nombre d'échantillon utilisé pour chaque comparaison est indiqué (n = x). Une case vide signifie que la corrélation n'a pas été réalisée puisque que toutes les valeurs étaient égales à zéro. HFDA : hydrolyse de la FDA ; AWCD : absorbance moyenne des microplaques BIOLOG ; % dégradation : pourcentage de sources de carbone dégradé des microplaques BIOLOG.

| Echantillon | Sable de surface (T2) n = 18 Corg acc | Rc (T2) n = 9 Corg acc |
|------------------------------|---|------------------------------|
| HFDA | 0,91 * | |
| α-glucosidase | 0,90 * | |
| β-glucosidase | 0,93 * | |
| Phosphatase acide | 0,86 * | |
| Phosphatase basique | 0,91 * | 0,84 * |
| Déshydrogénase | 0,66 * | 0,32 |
| Uréase | 0,89 * | -0,37 |
| Abondance bactérienne | -0,24 | -0,79 * |
| Abondance fongique | -0,16 | 0,000 |
| AWCD | -0,34 | -0,79 * |
| % dégradation | -0,45 | -0,54 |

De la même façon, après deux ans d'alimentation, le potentiel fonctionnel des communautés microbiennes était significativement plus élevé en aval des deux FPR pour le sable de surface et le Rc. La corrélation avec le carbone organique accumulé n'était significative que dans le Rc (coefficient de -0,79, p-value = 0,011), montrant un impact réduit dans le sable de surface. La zone la plus riche en nutriments, carbone et micropolluants n'a pas non plus stimulé le potentiel fonctionnel par rapport aux zones les plus pauvres, ce qui est cohérent avec les observations temporelles (Chazarenc et al., 2010 ; Mkhinini et al., 2020), l'eau chargée s'infiltrant d'abord en amont, l'impact négatif au cours terme était plus important dans cette zone et serait reliée à l'apport plus importants de polluants. Il s'agit de la première étude ayant caractérisé le potentiel fonctionnel selon la localisation horizontale d'un FPR. Les résultats suggèrent une **spécialisation** des fonctions des communautés microbiennes dans les FPR avec une diminution des fonctions au fil du temps et le rapprochement de la zone d'alimentation. Plus d'eaux chargées s'écoulaient, moins le potentiel fonctionnel était intense (AWCD) et variée (pourcentages totaux de puits dégradés).

Cependant, le sédiment, était déjà adapté aux eaux reçues dès T1 puisqu'il n'a pas montré cet impact négatif, présentant des valeurs élevées de biomasse et de potentiel fonctionnel constantes dans le temps alors qu'il s'agit de la couche la plus contaminée. Cela est cohérent puisqu'il est formé à partir des MES contenues dans les eaux de ruissellement et que de nombreux microorganismes sont donc

également apportés par les eaux (Mkhinini et al., 2020). Les communautés semblent donc adaptées. Pour le sable profond, peu de relations ont été observées selon la localisation horizontale en raison de sa profondeur, indiquant une influence moindre des apports extérieurs.

Ainsi, la biomasse bactérienne semblait moins sensible que le potentiel fonctionnel pour évaluer l'impact de l'alimentation des FPR.

En revanche, le dosage des activités enzymatiques a révélé des conclusions inverses pour le sable de surface, où la localisation horizontale a favorisé un **métabolisme microbien plus actif dans la zone d'alimentation en eaux de ruissellement**, suivi d'une diminution progressive avec son éloignement. Les activités étaient 1,8 à 1682 fois plus élevées en amont qu'en aval dans le sable de surface, avec une corrélation significativement positive de toutes les activités enzymatiques dans ce substrat révélée (coefficients entre 0,66 et 0,93, p-values < 0,003, Tableau 3.17). Seule la phosphatase basique était positivement corrélée à la localisation horizontale dans le Rc (coefficient de 0,84, p-value = 0,004). L'apport de carbone organique, nutriments et polluants en amont, retenus majoritairement par le sédiment et le sable de surface par filtration de l'eau, favoriserait donc des communautés plus actives dans les FPR, en accord avec des observations similaires dans d'autres OGEP (Guo et al., 2019) et des FPR verticaux ou sols traitant les eaux usées (Shackle et al., 2000 ; Swiontek Brzezinska et al., 2016 ; Mkhinini et al., 2020). Les activités enzymatiques étaient souvent corrélées avec les teneurs en azote, phosphore et carbone organique (Taylor et al., 2002 ; Bueis et al., 2018 ; Guo et al., 2019), localisées plutôt en amont dans cette étude (Tableau 3.1). Cependant, certains auteurs ont révélé que les activités enzymatiques étaient plus faibles dans les zones les plus contaminées (Brohon et al., 2001 ; Kumar et al., 2019 ; Lee et al., 2020) et d'autres qu'au long terme, une contamination prolongée augmentait ces activités (Lee et al., 2020). La présente étude a montré que, après seulement une année de fonctionnement, les valeurs les plus élevées d'activités enzymatiques étaient retrouvées dans la zone la plus contaminée (pour le sable de surface et sédiment). Le sable, initialement inerte, a donc subi une pression de sélection dès le début de son utilisation dans les FPR, indiquant un impact positif des eaux de ruissellement sur l'activité enzymatique de ce substrat. Les activités du Rc et du sable profond variaient moins dans l'espace, indiquant une absence d'impact des apports des eaux de ruissellement dans ces zones.

Cela permet de conclure sur le fait qu'après deux ans d'alimentation, l'accumulation de micropolluants n'a pas négativement ou nullement impacté les activités enzymatiques de tous les substrats contrairement aux abondances et potentiels fonctionnels. Les autres composés véhiculés par les eaux de ruissellement stimuleraient donc le métabolisme microbien en amont (Swiontek Brzezinska et al., 2016), mais les diversités des composés organiques dégradés et les abondances y seraient plus faibles, indiquant une spécialisation des communautés du sable de surface avec le temps mais également avec l'espace. Enfin, l'activité enzymatique globale, mesurée notamment à travers l'HFDA a montré de fortes différences entre la localisation contrairement à la biomasse bactérienne (facteurs d'enrichissement plus faibles), alors qu'une forte activité globale y est normalement associée (Green et al., 2006 ; Kumar et al., 2013 ; Bueis et al., 2018). Il est important de rappeler que le principe de la mesure de l'activité microbienne repose sur l'hydrolyse de la FDA par un grand nombre d'enzymes (lipases, protéases, estérases..., Green et al., 2006). Si la biomasse est importante, l'hydrolyse du substrat sera d'autant plus importante, sauf si les composés assimilables dans le sol ne nécessitent pas la production d'enzymes extracellulaires hydrolytiques liées à la dégradation de la FDA ou lorsque les conditions de croissance ne sont pas limitantes (Henkinet et al., 1989). Il serait donc intéressant de caractériser les matières organiques présentes dans les différents substrats afin de pouvoir comprendre les différences observées entre les abondances et cette activité enzymatique dans le sable de surface.

- *Un impact significatif de la localisation verticale sur les communautés microbiennes*

Enfin, la dynamique des communautés microbiennes était également **impactée par la localisation verticale** dans les FPR. D'une part, les substrats les plus superficiels étaient ceux ayant le plus évolué dans le temps et l'espace. Le sable profond n'a révélé que très peu d'évolution des biomasses, activités enzymatiques et potentiel fonctionnel. L'alimentation des FPR de haut en bas implique alors un très faible impact des eaux une fois arrivées dans cette couche puisque les composés véhiculés ont été retenus dans les couches sus-jacentes. D'autre part, une **diminution** plus ou moins forte de tous les paramètres biologiques était observée **avec la profondeur**. En effet, les corrélations

entre les paramètres biologiques et les profondeurs (les différents substrats) étaient toujours significativement négativement corrélées pour les deux FPR, sauf l'abondance fongique dans FR et la phosphatase acide et déshydrogénase dans FS. Les coefficients variaient alors de -0,64 à -0,92 pour FS et de -0,67 à -0,96 pour FR (p-values < 0,001, Tableau 3.18) ; l'abondance fongique étant le paramètre le plus faiblement corrélé.

Tableau 3.18 : Matrices de corrélation de Spearman des paramètres biologiques mesurés au T2 selon les différents substrats pour chaque filtre (séparés) selon la localisation verticale, matérialisée par la profondeur. Les coefficients de corrélation avec un * sont significatifs (p-value < 0,05) et ceux en gras sont supérieurs à 0,60. Le nombre d'échantillon utilisé pour chaque comparaison est indiqué (n = x). HFDA : hydrolyse de la FDA ; AWCD : absorbance moyenne des microplaques BIOLOG ; % dégradation : pourcentage de sources de carbone dégradé des microplaques BIOLOG.

| Echantillon | Tous les échantillon FS (T2) n = 21 | Tous les échantillon FR (T2) n = 30 |
|------------------------------|--|--|
| Corrélation | Profondeur | Profondeur |
| HFDA | -0,92 * | -0,78 * |
| α-glucosidase | -0,75 * | -0,89 * |
| β-glucosidase | -0,64 * | -0,75 * |
| Phosphatase acide | -0,51 * | -0,70 * |
| Phosphatase basique | -0,92 * | -0,95 * |
| Déshydrogénase | -0,57 * | -0,67 * |
| Uréase | -0,92 * | -0,96 * |
| Abondance bactérienne | -0,92 * | -0,80 * |
| Abondance fongique | -0,42 | -0,55 * |
| AWCD | -0,93 * | -0,77 * |
| % dégradation | -0,94 * | -0,72 * |

La diminution de l'abondance bactérienne et fongique avec la profondeur suit un profil typique des sols naturels, les nutriments, matières organiques et oxygène étant plus élevés en surface (dans notre cas, par les apports d'eaux de ruissellement), stimulent davantage les microorganismes dans les premiers centimètres (Bourceret, 2016). Dans des OGEP, la même observation était révélée par d'autres auteurs (Winiarski, 2006 ; Nogaro et al., 2007), les premiers centimètres étaient toujours les plus riches en bactéries, les champignons n'ayant pas été étudiés.

Les abondances microbiennes étaient donc bien plus élevées dans le sédiment. Nogaro et al. (2007) avaient mis en évidence que le sédiment d'eaux de ruissellement stimulait plus les populations microbiennes par ses teneurs élevées et biodisponibles en matières organiques particulière (rapport C/N favorable) que du sédiment de cours d'eaux naturels à des teneurs en matières organiques pourtant élevées également. Ainsi, les fortes teneurs en carbone organique, le rapport C/N similaire à l'étude (entre 25,5 et 27,8 au T2) et la proportion plus élevée de particules fines (plus grande capacité à protéger les microorganismes grâce à des surfaces et une capacité adsorbantes élevées permettant des interactions plus étroites entre les microorganismes et les matières organiques dégradables, Truu et al., 2009) ont fortement stimulé les communautés microbiennes du sédiment des FPR comparé aux couches sous-jacentes. Puis, bien que le sable ait initialement été plus riche en bactéries que le Rc, les abondances du sable de surface et du Rc étaient similaires au T2, indiquant un fort développement dans le Rc malgré sa profondeur, sa nature industrielle, son fort pH, et son rapport C/N élevé (entre 50 et 62 au T2). Enfin, l'abondance fongique a diminué plus rapidement avec la profondeur que l'abondance bactérienne, démontrant un impact plus rapide de la profondeur pour cette communauté (Li et al., 2020), cependant, son coefficient de corrélation avec la profondeur était le plus faible.

Les activités enzymatiques (sauf la β-glucosidase et phosphatase acide) et le potentiel fonctionnel des deux FPR étaient positivement corrélés à l'abondance bactérienne (coefficients de Spearman entre 0,62 et 0,85, p-values < 10⁻⁴) mais pas fongique indiquant qu'ils étaient surtout impactés par l'abondance bactérienne et diminuent donc également avec la profondeur.

L'impact le plus significatif de la profondeur a été observé pour les activités enzymatiques (coefficients entre -0,57 et -0,92 pour FS et coefficients entre -0,67 et -0,95 pour FR, p-values < 0,018) et le sédiment se distinguant par une activité bien plus élevée que tout autre substrat (2,6 à 31,8 fois plus actif que le second substrat le plus actif). L'uréase et la phosphatase basique étaient les plus fortement corrélées avec la profondeur dans les deux FPR (-0,92 à -0,96). Dans une méta-analyse, *El Mekdad et al. (2022)*, ont également confirmé la diminution des activités enzymatiques avec la profondeur dans de nombreux sols naturels, particulièrement pour les α - et β -glucosidase, les phosphatases acide et basique et l'uréase. Cette tendance s'expliquait par la diminution de la disponibilité en substrats organiques avec la profondeur, conduisant à une réduction de l'activité microbienne responsable de la production d'enzymes (*El Mekdad et al., 2022 ; Ko et al., 2017*). Dans la présente étude, l'alimentation en eau par le haut a donc induit un profil similaire à un sol naturel, où plus de carbone organique et de nutriments sont piégés en surface, confirmé par d'autres études en contexte similaire (*Zhou et al., 2005 ; Faulwetter et al., 2009 ; Truu et al., 2009 ; Guo et al., 2019*). Le sédiment, en raison de ses propriétés physico-chimiques favorables, a fortement stimulé l'activité microbienne malgré sa forte contamination, en accord avec d'autres études caractérisant des sédiments dans des OGEP (*Nogaro et al., 2007 ; Truu et al., 2009 ; Deeb et al., 2018*). Ces mêmes particules filtrées et retenues dans le sable majoritairement en amont ont également contribué à accroître son activité.

En revanche, dans la méta-analyse, *El Mekdad et al. (2022)* ont également révélé que les oxydoréductases (dont fait partie la déshydrogénase) ne montraient pas de tendance particulière avec la profondeur. Cela pouvait s'expliquer par la spécificité et la plus faible dégradabilité des enzymes en profondeur puisque les oxydoréductases sont des molécules au poids moléculaire généralement plus élevé que les hydrolases (*Sinsabaugh, 2010*) ou encore par des effets de certaines propriétés du sol (concentration en oxygène). Cela pourrait expliquer les résultats obtenus sur les deux FPR, où l'activité de la déshydrogénase était la seule égale ou plus importante en profondeur (excepté pour le sédiment qui reste le plus actif). Dans le Rc, cette forte activité traduit un potentiel d'oxydation par les microorganismes élevé, ce qui est intéressant pour la dégradation des composés (*Tabatabai, 1994*). De plus, la bonne oxygénation des filtres par des aérations limite l'effet de la diminution de l'oxygène avec la profondeur (*Molle et al., 2013*).

Enfin, le sable profond du filtre FS a montré un métabolisme légèrement plus élevé que celui de FR. Cela est directement lié au fait que dans le filtre FS, il a été prélevé sur 30 cm tandis qu'il l'a été sur les 10 derniers cm pour FR, l'impact de la profondeur était donc plus important dans ce dernier mais restait faible, indiquant une faible évolution des communautés microbiennes entre dans le sable après -10 cm de profondeur.

Pour finir, le potentiel fonctionnel est le paramètre ayant le moins été impacté par la localisation verticale, un clivage net entre le sédiment et les autres substrats était surtout observé. La corrélation avec la profondeur était tout de même significative et plus importante dans FS que FR (coefficients autour de 0,93 pour FS et de 0,75 pour FR), en raison des différences plus faibles entre le sable de surface et le Rc. Une seule étude a évalué le potentiel fonctionnel du sédiment de deux zones humides aménagées pour traiter les eaux de ruissellement, l'une âgée de 8 ans et l'autre de 2 ans (*Font Nájera et al., 2020*). Les valeurs d'AWCD d'environ 1,7, mesurées dans cette étude quel que soit l'âge, sont comparables à celles de la présente étude, indiquant une stabilité du potentiel fonctionnel du sédiment dans le temps, contrairement aux activités enzymatiques qui ont augmenté entre T1 et T2. Enfin, bien que le sable de surface et le sédiment présentent des profils physiologiques similaires en termes de familles de carbone dégradées au T2 indiquant une homogénéisation des fonctions entre les deux solides, le sable conserve une activité plus faible en raison de sa nature, se rapprochant davantage de l'activité du Rc.

● Conclusion de la colonisation des communautés microbiennes dans les différents substrats des FPR

Le **sédiment** était donc la couche des deux FPR la plus biologiquement active en plus d'être celle présentant la plus forte contamination de polluants. L'ACP réalisée avec l'ensemble des données biologiques du T2 (Annexe 3-28) séparait fortement ce solide des autres selon l'axe expliquant le plus de variabilité des données (89 %). Aucun impact négatif n'a donc été observé entre T1 et T2 malgré l'augmentation de la contamination en MPO, indiquant des populations acclimatées aux eaux reçues.

De nombreux processus biologiques auront ainsi lieu dans le sédiment grâce à ce développement important, indiquant un rôle important du sédiment sur les processus biogéochimiques des FPR, notamment la biodégradation.

Le **sable de surface** a montré une forte colonisation qui était la plus hétérogène dans l'espace, comme pour ses propriétés physico-chimiques et son accumulation de micropolluants. Il était ainsi séparé des autres substrats composant les FPR après deux ans d'alimentation (Annexe 3-28), alors qu'aucune différence n'était observée initialement entre ces substrats (Annexe 3-29). En retirant le sédiment de l'évaluation statistique afin de mieux observer les différences entre les autres substrats (Figure 3.24), le sable de surface de la zone amont était le plus différencié des autres échantillons et était surtout corrélé aux activités enzymatiques. Le sable en aval était plutôt corrélé au potentiel fonctionnel et aux abondances. Le développement des communautés microbiennes autochtones de ce substrat a donc révélé être le plus sensible aux eaux de ruissellement reçues, plus chargées en amont.

Le métabolisme microbien est donc plus important en amont et surface des FPR, lieu d'accumulation préférentiel des micropolluants, indiquant que la biodégradation pourrait être plus importante dans cette zone.

Cette ACP a également révélé la forte corrélation de l'abondance microbienne avec le potentiel fonctionnel d'une part et la forte corrélation des activités enzymatiques entre elles d'autre part, excepté la déshydrogénase.

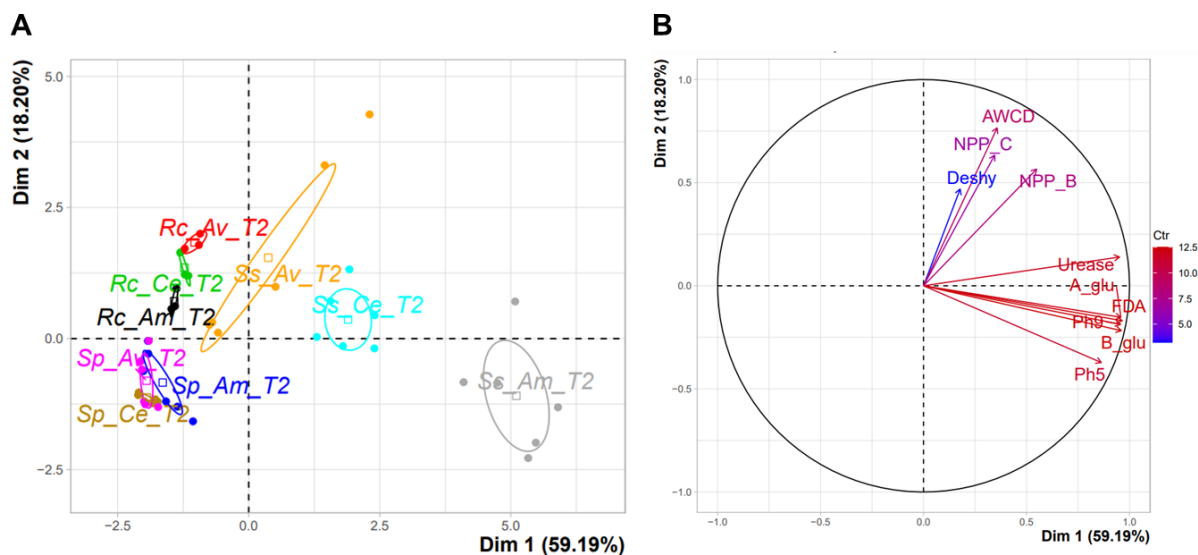


Figure 3.24 : Analyse en Composante Principale (ACP) des différents substrats lors de la campagne sans le sédiment. A : Graphique des individus : projection de la variabilité de l'ensemble des données sur une carte factorielle des deux premiers axes discriminants. Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond. Am : amont ; C : centre ; Av : aval. B : Graphique des variables : cercle de corrélation des vecteurs des variables étudiées (abondance bactérienne NPP_B, abondance fongique NPP_C, activités enzymatiques urease, Ph5, Ph9, B_glu, A_glu, FDA, deshy, absorbance moyenne des plaques BIOLOG AWCD). Les deux premiers axes expliquent 77,39 % de l'inertie totale du jeu de données.

La microbiologie du **Rc** n'avait encore jamais été étudiée. Les premiers résultats ont indiqué que malgré une nature pouvant être hostile aux microorganismes, un développement a également eu lieu rapidement, surtout en termes d'abondance bactérienne, qui a rejoint celle du sable de surface (initialement plus abondant). L'ACP a tout de même révélé qu'il restait métaboliquement peu actif, les échantillons étaient plutôt anti-corrélés aux paramètres biologiques et montraient moins de différences selon la localisation horizontale (Figure 3.24). En aval, il était tout de même plus corrélé à l'abondance microbienne et le potentiel fonctionnel.

Enfin, le **sable profond** était le substrat le moins soumis à l'évolution spatio-temporelle de ses communautés, l'ACP n'a révélé aucune différence entre les trois zones, et il était le moins corrélé aux paramètres biologiques (Figure 3.24). Sa faible sollicitation par les eaux chargées en fait une couche

moins intéressante pour le traitement des micropolluants par les microorganismes, qui représente tout de même 75 % du volume total du filtre FS. Ainsi, les processus microbiologiques dominants auront surtout lieu dans les dix premiers centimètres des FPR.

Les paramètres biologiques répondaient ainsi **différemment** à l'alimentation en eaux de ruissellement et selon les substrats des FPR. Les activités enzymatiques semblaient plus sensibles aux variations horizontales et verticales et les conclusions sur les dynamiques observées étaient proches de celles lors de traitement des eaux usées, avec l'activité microbienne la plus importante en **amont** et en **surface** (Mkhinini et al., 2020 ; Elifantz et al., 2011). Le sédiment était la couche la plus biologiquement active, suivi du sable de surface en amont, indiquant que cette portion des FPR jouera un rôle plus important sur les processus d'élimination des micropolluants. Ces résultats confirment donc une **colonisation microbienne avec le temps** par des apports répétés d'eau de ruissellement dont les abondances et activités métaboliques du sable de surface essentiellement étaient **impactées** par la localisation **horizontale** et **verticale** en raison de l'hétérogénéité des apports dans les FPR.

Les communautés microbiennes ont donc été **modifiées** et se sont **spécifiées** avec le temps, avec une diversité et intensité de dégradation de sources de carbone plus faibles en deux ans mais des activités enzymatiques globales et spécifiques aux cycles biogéochimiques plus importantes, liés aux eaux de ruissellement, traduisant une **sélection** de communautés selon les apports. Le potentiel fonctionnel tend tout de même à réaugmenter avec le temps traduisant l'adaptation des communautés avec le temps. Selon le substrat, l'évolution était également différente.

XI.4.4. Diversité génétique

Afin d'évaluer la diversité génétique bactérienne et fongique, l'ADN de chaque échantillon a été extrait et séquencé. Comme pour le dosage des teneurs en micropolluants, aucune répétition d'échantillon n'a été réalisée. Concernant les **bactéries**, le séquençage a généré initialement une gamme de séquences brutes (« reads »), variant de 35 853 à 339 881 séquences selon les échantillons. Après l'étape de débruitage (« denoising »), le nombre de séquences retenues (« non chimériques ») variait de 32 638 à 261 636, représentant alors entre 72,8 à 92,2 % du nombre de séquences brutes. Après le traitement des données (détaillé dans la Partie 2), un total de 21 837 ASV (« amplicon sequence variant » soit un taxon) distincts a été identifié, tous les échantillons confondus. Le nombre de taxons différents variait alors entre 494 et 2 961 selon l'échantillon. Pour les **champignons**, le séquençage a généré initialement une gamme de séquences brutes, variant de 76 934 à 349 447 séquences selon les échantillons. Après l'étape de débruitage, le nombre de séquences retenues variait de 58 815 à 213 108, représentant alors entre 58,2 à 85,2 % du nombre de séquences brutes. Après traitement des données, un total de 7 751 ASV distincts a été identifié, tous les échantillons confondus. Le nombre de taxons différents variait alors entre 43 et 699 selon l'échantillon.

A partir de ces résultats traités, il a alors été possible de calculer différents indices, les indices de diversité alpha (diversité intra-échantillon) et beta (diversité inter-échantillon) mais également de calculer les abondances relatives des différents taxons, selon le rang taxonomique souhaité. Cependant, pour calculer les indices de diversité, il est nécessaire de procéder à une **raréfaction** du nombre de séquences dans chaque échantillon, afin d'éliminer l'hétérogénéité des échantillons (qui ont un nombre de séquences différent). L'approche de la raréfaction consiste à prélever au hasard le même nombre de séquences dans chaque échantillon et à utiliser ces données pour comparer les communautés à un niveau donné de profondeur d'échantillonnage. Pour cela, le nombre de séquences à prélever est défini selon le plus petit nombre de séquences obtenues dans un échantillon, soit 32 638 pour les bactéries et 58 815 pour les champignons. Les courbes de raréfaction ainsi obtenues sont présentées en Annexe 3-30. Elles révèlent que la quantité d'information obtenue après raréfaction représente suffisamment la diversité des échantillons puisque la diversité est saturée (plateau après un certain nombre de séquences) pour la profondeur d'échantillonnage donnée (32 638 ou 58 815). Les analyses peuvent donc être réalisées.

Dans cette partie, l'évaluation de la diversité génétique microbienne sera réalisée au travers de l'étude des indices de diversité et des taxons microbiens présents, au niveau des **embranchements** et **classes**

uniquement. Une étude plus approfondie au niveau des genres sera réalisée dans le chapitre XII -lors d'une étude au laboratoire uniquement. L'objectif est d'étudier comment l'alimentation en eaux des FPR a impacté les communautés microbiennes.

XI.4.4.1. Evolution de la diversité alpha

Pour commencer, différents indices de **diversité alpha des communautés bactériennes** ont été calculés pour chaque échantillon à l'aide du logiciel QIIME 2 (Tableau 3.19) : indice de Shannon, indice d'équitabilité et nombre de taxons observés. Ils permettent d'évaluer la diversité intra-échantillon.

Tableau 3.19 : Diversité alpha bactérienne des différents échantillons lors des trois campagnes (T0, T1 et T2), représentée par l'indice de Shannon, l'indice d'équitabilité et le nombre de taxons observés. Am : amont. C : centre. Av : aval. Sdt : sédiment. Ss : sable de surface. RC : Rainclean. Sp : sable profond.

| Echantillon | | Indice de Shannon | | | Indice d'équitabilité | | | Nombre de taxons observés | | |
|-------------|-----------|-------------------|-------|-------|-----------------------|------|------|---------------------------|------|------|
| | | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 |
| FS | Sdt-Am | | 10,42 | 10,00 | | 0,90 | 0,91 | | 2961 | 2015 |
| | Ss-Am | 8,70 | 10,00 | 9,39 | 0,83 | 0,92 | 0,92 | 1382 | 1895 | 1191 |
| | Ss-C | 8,59 | 9,96 | 9,66 | 0,84 | 0,87 | 0,90 | 1243 | 2802 | 1749 |
| | Ss-Av | 9,83 | 9,91 | 9,77 | 0,91 | 0,86 | 0,90 | 1743 | 2833 | 1880 |
| | Sp-Am | 8,71 | 10,30 | 9,30 | 0,83 | 0,90 | 0,89 | 1395 | 2871 | 1418 |
| | Sp-C | 8,58 | 10,08 | 9,46 | 0,84 | 0,89 | 0,90 | 1235 | 2518 | 1474 |
| | Sp-Av | 9,83 | 9,90 | 9,56 | 0,91 | 0,87 | 0,90 | 1743 | 2666 | 1619 |
| FR | Sdt-Am | | 10,20 | 9,83 | | 0,90 | 0,90 | | 2484 | 1985 |
| | Ss-Amont | 8,59 | 10,31 | 9,40 | 0,78 | 0,91 | 0,92 | 2153 | 2570 | 1166 |
| | Ss-Centre | 9,56 | 10,34 | 9,43 | 0,90 | 0,90 | 0,92 | 1634 | 2792 | 1242 |
| | Ss-Aval | 9,60 | 9,90 | 9,85 | 0,90 | 0,87 | 0,91 | 1640 | 2683 | 1778 |
| | Rc-Am | 7,67 | 10,15 | 9,77 | 0,76 | 0,89 | 0,89 | 1080 | 2625 | 2030 |
| | Rc-C | 7,34 | 9,79 | 9,61 | 0,82 | 0,88 | 0,91 | 494 | 2172 | 1498 |
| | Rc-Av | 7,62 | 9,94 | 9,61 | 0,79 | 0,89 | 0,90 | 795 | 2318 | 1637 |
| | Sp-Amont | 7,06 | 10,43 | 10,01 | 0,76 | 0,91 | 0,90 | 629 | 2738 | 2250 |
| | Sp-Centre | 7,07 | 10,30 | 9,49 | 0,76 | 0,91 | 0,90 | 628 | 2669 | 1493 |
| Sp-Aval | 7,04 | 10,31 | 9,59 | 0,76 | 0,91 | 0,90 | 628 | 2680 | 1667 | |

L'évolution **temporelle** de la diversité alpha **bactérienne** a été étudiée dans les différents échantillons. Dans le sédiment, l'indice de Shannon était entre 10,2-10,4 au T0, diminuant légèrement à 9,8-10,0 au T2. L'indice d'équitabilité a stagné. Pour le sable de surface, la diversité est passée de 8,6-9,8 à 9,9-10,34 entre T0 et T1, puis a stagné (légère diminution). L'indice d'équitabilité a suivi la même tendance entre T0-T1 et T1-T2. Le RC, initialement moins diversifié, a connu la plus forte augmentation de l'indice de Shannon, passant de 7,3-7,7 à 9,8-10,2 entre T0 et T1, puis l'évolution était plus faible entre T1 et T2 également. Le sable profond de FR, initialement le moins diversifié, a rejoint la diversité du sable de surface au T1 (Shannon de 10,3-10,4). La diversité alpha des différents substrats, excepté le sédiment (plus stable) a donc eu tendance à augmenter entre T0 et T1, puis à stagner voire légèrement diminuer entre T1 et T2. La répartition des différentes espèces est devenue homogène pour tous les échantillons, avec un indice d'équitabilité compris entre 0,89 et 0,92 au T2 tout substrat confondu. Les résultats de corrélations multiples de Spearman réalisées pour chaque substrats (Tableau 3.20) indiquent que le temps a significativement (p -values < 0,024) influencé de façon positive l'indice d'équitabilité du sable de surface (coefficient de 0,58), du Rc (coefficient de 0,91), mais pas du sable profond.

Après deux ans, peu de variations ont été observées selon la localisation **horizontale**. Dans le sable de surface, l'équité était similaire, mais l'aval présentait des indices de Shannon et un nombre de taxons plus élevés que l'amont, comme mesuré initialement (indice de Shannon de 9,4 9,4 et 9,85 entre

l'amont, le centre et l'aval). Une corrélation négative significative entre la diversité du sable de surface (T2) et le carbone organique accumulé a été notée (dernière colonne du Tableau 3.20). Le RC montrait une diversité similaire avec une légère augmentation en amont contrairement au sable (9,8, 9,6 et 9,6 entre l'amont, le centre et l'aval). Le sable profond a montré des tendances différentes entre les FPR, influencé par le RC. Ces résultats soulignent un impact hétérogène de la localisation horizontale sur les valeurs selon le substrat. En amont, la diversité du sable de surface était plus faible, mais les communautés y étaient plus régulières par rapport à l'aval.

L'évolution **verticale** de la diversité alpha était moins prononcée que d'autres paramètres biologiques. Le sédiment affichait une diversité légèrement supérieure (T2, indice de Shannon entre 9,8 et 10,0). Concernant les autres substrats, les différences étaient minimales. L'indice de Shannon du sable de surface, Rc et sable profond variait de 9,3 à 10,0, la plus forte valeur étant mesurée dans le sable profond en amont du filtre FR. L'analyse des échantillons à différentes profondeurs (T2) a révélé une corrélation négative faible mais significative seulement pour l'indice d'équitabilité (-0,52, p-value = 0,018), sans tendance claire avec la profondeur.

Tableau 3.20 : Coefficients de corrélation de Spearman obtenus lors de comparaisons multiples des indices de diversité alpha bactériens avec les informations de temporalité et de spatialisation (profondeur et carbone organique accumulé Corg acc) des substrats. Comparaisons multiples pour le sable de surface, le Rainclean et le sable profond (tous temps confondus), pour les trois substrats regroupés (temps T0 et T1 ou temps T2 considérés) et pour le sable de surface au T2. Les valeurs en gras accompagnées d'un * sont les coefficient significatifs (p-value < 0,05). Le nombre d'échantillon utilisé pour chaque comparaison est indiqué (n = x).

| | Sable de surface (T0-T1-T2) n = 18 | RC (T0-T1-T2) n = 9 | Sable profond (T0-T1-T2) n = 18 | Tous les substrats (T2) n = 20 | Sable de surface (T2) n = 6 |
|------------------------------|---|----------------------------------|--|---|--|
| Paramètre | Temps | Temps | Temps | Profondeur | Corg acc |
| Indice de Shannon | 0,18 | 0,48 | 0,35 | -0,28 | -0,94 * |
| Indice d'équitabilité | 0,58 * | 0,91 * | 0,45 | -0,52 * | 0,83 * |
| Nombre de taxons | -0,09 | 0,47 | 0,34 | -0,12 | -0,94 * |

Les indices de diversité alpha des communautés **fongiques** ont été également évalués (Tableau 3.21). Initialement faible au T0 (plus que pour les bactéries), la diversité alpha fongique a augmenté entre les campagnes T0 et T1 pour tous les échantillons, montrant ensuite des différences minimales entre T1 et T2, similaire aux communautés bactériennes. La diversité du sédiment a diminué entre T1 et T2 (indice de Shannon de 10,2-10,4 à 9,8-10,0). Dans le sable de surface, la diversité a augmenté, surtout entre T0 et T1 (3,61-5,43 au T0, 5,94-6,87 au T1 et 5,02-6,78 au T2) et l'indice d'équitabilité était plus faible qu'avec les bactéries. Pour le Rc, la diversité alpha initiale était parmi les plus élevées et homogènes dès T0 (indice de Shannon de 5,5-5,8), augmentant avec le temps sauf en aval. Le sable profond avait une diversité initialement basse (indice de Shannon autour de 4,4) mais a montré une forte augmentation entre T0 et T1, pour diminuer entre T1 et T2, restant supérieure à l'initiale. L'indice de régularité était comparable aux autres substrats au T2. Ainsi, comme pour les bactéries la diversité alpha a eu tendance à augmenter avec le temps (indice de Shannon et nombre de taxons), mais l'indice de régularité a eu tendance à diminuer contrairement aux bactéries. Le nombre de taxon a donc augmenté mais de façon hétérogène induisant une répartition plus hétérogène des populations fongiques. La diversité alpha fongique était plus faible que celle des bactéries pour tous les échantillons, ce qui est généralement le cas dans les sols (Preusser et al., 2019). Les corrélations de Spearman (Tableau 3.22) montrent une influence positive significative (p-values < 0,048) du temps sur l'indice de Shannon et le nombre de taxons du sable de surface, ainsi que du sable profond, et une influence négative significative sur l'équitabilité du Rc. Globalement, les indices de Shannon et d'équitabilité étaient positivement corrélés avec le temps, suggérant une diversification des bactéries des substrats au fil du temps.

Tableau 3.21 : Diversité alpha **fongique** des différents échantillons lors des trois campagnes (T0, T1 et T2), représentée par l'indice de Shannon, l'indice d'équitabilité et le nombre de taxons observés. Am : amont. C : centre. Av : aval. Sdt : sédiment. Ss : sable de surface. RC : Rainclean. Sp : sable profond.

| Echantillon | Indice de Shannon | | | Indice d'équitabilité | | | Nombre de taxons observés | | | |
|-------------|-------------------|------|------|-----------------------|------|------|---------------------------|-----|-----|-----|
| | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | |
| FS | Sdt-Am | 7,86 | 7,55 | 0,83 | 0,82 | | 685 | 586 | | |
| | Ss-Am | 5,43 | 6,22 | 6,52 | 0,84 | 0,70 | 0,74 | 87 | 487 | 430 |
| | Ss-C | 3,61 | 6,87 | 6,75 | 0,62 | 0,75 | 0,77 | 58 | 552 | 445 |
| | Ss-Av | 5,05 | 5,97 | 5,02 | 0,72 | 0,67 | 0,59 | 128 | 503 | 359 |
| | Sp-Am | 5,42 | 6,15 | 5,59 | 0,84 | 0,68 | 0,66 | 87 | 522 | 348 |
| | Sp-C | 3,61 | 6,79 | 6,26 | 0,62 | 0,74 | 0,73 | 58 | 576 | 385 |
| | Sp-Av | 5,01 | 6,35 | 6,07 | 0,72 | 0,69 | 0,71 | 127 | 588 | 369 |
| FR | Sdt-Am | 8,00 | 4,81 | 0,85 | 0,63 | | 699 | 201 | | |
| | Ss-Amont | 5,13 | 5,94 | 6,78 | 0,66 | 0,68 | 0,77 | 213 | 411 | 455 |
| | Ss-Centre | 4,09 | 6,81 | 6,41 | 0,64 | 0,75 | 0,76 | 85 | 549 | 356 |
| | Ss-Aval | 4,85 | 5,98 | 6,76 | 0,71 | 0,72 | 0,78 | 111 | 311 | 410 |
| | Rc-Am | 5,54 | 6,63 | 6,36 | 0,85 | 0,72 | 0,73 | 92 | 586 | 425 |
| | Rc-C | 5,76 | 6,72 | 6,24 | 0,87 | 0,75 | 0,73 | 96 | 516 | 388 |
| | Rc-Av | 5,67 | 4,94 | 6,03 | 0,84 | 0,59 | 0,70 | 105 | 330 | 405 |
| | Sp-Amont | 4,38 | 7,26 | 5,22 | 0,80 | 0,78 | 0,73 | 44 | 613 | 145 |
| | Sp-Centre | 4,37 | 7,28 | 6,42 | 0,80 | 0,79 | 0,77 | 44 | 591 | 330 |
| Sp-Aval | 4,38 | 7,20 | 5,76 | 0,81 | 0,78 | 0,67 | 43 | 595 | 372 | |

Peu de variations **horizontales** ont été observées dans la diversité alpha fongique après deux ans (T2). En ne considérant que le sable de surface au T2 (Tableau 3.22), aucune corrélation avec le carbone organique n'a été trouvée, indiquant un impact limité de l'éloignement de la zone d'alimentation en eaux sur ces populations. Dans le Rc, une légère relation montrait une diversité alpha légèrement plus élevée en amont, avec une équitabilité similaire entre les zones (indice de Shannon de 6,4, 6,2 et 6,0 entre l'amont, centre et aval, Tableau 3.21). Le sable profond présentait peu de variation horizontale, avec des communautés fongiques légèrement plus élevées au centre et à l'aval des deux FPR. Ces résultats indiquent un impact limité de la localisation horizontale, bien que le Rc semble être influencé. Contrairement aux bactéries, la diversité alpha des communautés fongiques dans le sable de surface n'a pas été affectée par la présence d'eau de ruissellement en amont.

Tableau 3.22 : Coefficients de corrélation de Spearman obtenus lors de comparaisons multiples des indices de diversité alpha fongiques avec les informations de temporalité et de spatialisation (profondeur et carbone organique accumulé Corg acc) des substrats. Comparaisons multiples pour le sable de surface, le Rainclean et le sable profond (tous temps confondus), pour les trois substrats regroupés (temps T0 et T1 ou temps T2 considérés) et pour le sable de surface au T2. Les valeurs en gras accompagnées d'un * sont les coefficients significatifs (p -value < 0,05). Le nombre d'échantillon utilisé pour chaque comparaison est indiqué ($n = x$).

| Paramètre | Sable de surface (T0-T1-T2) $n = 18$ Temps | RC (T0-T1-T2) $n = 9$ Temps | Sable profond (T0-T1-T2) $n = 18$ Temps | Tous les substrats (T2) $n = 20$ Profondeur | Sable de surface (T2) $n = 6$ Corg acc |
|-----------------------|---|--------------------------------|--|--|---|
| Indice de Shannon | 0,66 * | 0,47 | 0,49 * | -0,34 | 0,31 |
| Indice d'équitabilité | 0,39 | -0,69 * | -0,46 | -0,28 | -0,03 |
| Nombre de taxons | 0,59 * | 0,63 | 0,47 * | -0,43 | 0,43 |

L'**évolution verticale** de la diversité alpha fongique dans les différents échantillons était assez constante, comme pour celle des bactéries. Dans le filtre FS au T2, le sédiment présentait une diversité légèrement plus élevée que le sable de surface, similaire au sable profond. (Shannon et équité). Dans le filtre FR, le sédiment présentait une diversité inférieure à celle du sable de surface, mais supérieure au Rc et au sable profond (Shannon et équité). L'analyse comparative de tous les échantillons au T2 selon les profondeurs ne montrait aucune corrélation significative, suggérant que les communautés fongiques étaient moins sensibles à la profondeur que les bactéries.

Finalement, si les **deux filtres sont comparés**, la diversité alpha était bien supérieure dans le sédiment du filtre FS (au T2, 7,55 contre 4,81 pour l'indice de Shannon dans FS et FR respectivement). Les autres substrats avaient des diversité alpha similaires entre les deux FPR.

Les indices de Shannon microbiens ont donc augmenté entre T0 et T1, suivi d'une variation plus faible. L'alimentation a ainsi favorisé le développement de nouvelles populations microbiennes et aurait également amené des communautés exogènes (*Mkhinini et al., 2020*). Après un an, la diversité était plus stabilisée. Ainsi, la diminution du potentiel fonctionnel dans les substrats, observée entre T0 et T1 (Figure 3.22), n'était pas liée à une diminution de la diversité. Cela révèle plutôt une redondance des fonctions portées par les microorganismes ayant colonisé les FPR après un an d'alimentation. La diversité génétique est devenue importante mais était moins diversifiée en termes de fonctions. Les activités enzymatiques permettent finalement de conclure sur le fait que leur spécialisation a induit des activités rapidement élevées indiquant une spécialisation des communautés bactériennes face aux eaux reçues. Cet effet était particulièrement visible dans le sable de surface selon la localisation horizontale, avec une diversité génétique et un potentiel fonctionnel plus faible qu'en aval, mais des activités enzymatiques plus fortes (avec au minimum une activité plus de 2,4 fois plus importante en amont qu'en aval). Le Rc, initialement le substrat le moins diversifié lié à la nature industrielle a montré une forte augmentation avec le temps, indiquant une colonisation rapide de ce substrat dans les FPR (diversité similaire au sable de surface). Le sable profond s'est diversifié aussi, mais n'a pas montré d'augmentation d'activité. La diversification des communautés s'est donc accompagnée d'un métabolisme plus faible. Le sédiment était la couche la plus diversifiée, ce qui expliquerait son activité et son potentiel fonctionnel plus importants mesurés. L'alimentation des FPR a ainsi eu tendance à augmenter la diversité en sélectionnant des populations redondantes dans leurs fonctions mais étant plus actives.

La diversité alpha était comparable avec celles mesurées dans des OGEP (*Gill et al., 2020 ; Li et al., 2021 ; Wang et al., 2023*). En comparant les communautés dans des noues et dans des sols urbains non aménagés, *Gill et al. (2020)* ont montré que la diversité génétique bactérienne et fongique était significativement plus élevée dans les OGEP que dans les sols témoins. Ils abritaient des communautés microbiennes distinctes, tant sur le plan de la composition que sur le plan fonctionnel, de celles des sols non aménagés. La diversité microbienne était particulièrement élevée, avec notamment un nombre important de taxons associés à des services écosystémiques clés tels que le cycle de l'azote, la biodégradation et la décomposition. La forte diversité alpha des communautés pouvait donc être expliquée par l'alimentation des FPR en eaux de ruissellement qui ont diversifiées les communautés microbiennes avec le temps en relation avec les apports, conduisant à un potentiel fonctionnel plus faible mais un métabolisme plus rapide.

XI.4.4.2. Evolution de la diversité bêta

Un deuxième indice calculé pour les différents échantillons est la **diversité bêta des communautés microbiennes**, à l'aide de l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis (BC). Cet indice permet d'évaluer la diversité inter-échantillons, c'est-à-dire à quel point les communautés microbiennes ont des structures différentes entre les échantillons. Pour rappel, ces distances sont évaluées par paire d'échantillon et les valeurs obtenues sont comprises entre 0 (les deux échantillons ont la même composition) et 1 (les échantillons sont totalement différents en termes de communautés microbiennes). La Figure 3.25 présente une PCoA des indices de BC des communautés **bactériennes** de tous les échantillons récupérés au cours de cette étude, séparés selon le FPR. Elle permet de représenter de façon plus lisible la matrice des indices de dissimilarité calculés.

Tout d'abord, cette figure nous renseigne sur **l'évolution temporelle** des communautés bactériennes. Initialement (T0), les communautés du filtre FR étaient différentes selon les trois substrats, le sable était celui ayant des communautés les plus différentes du Rc et sable profond : distances entre le sable de surface et profond comprises entre 0,72 et 0,87 ; distances entre le sable de surface et Rc comprises entre 0,90 et 0,95 ; distances entre le sable profond et le Rc comprises entre 0,73 et 0,75. Il n'y avait pas de différence entre les substrats dans le filtre FS puisqu'il s'agissait des mêmes échantillons au T0. Ainsi, en regroupant les deux FPR, les différences des communautés selon le substrat étaient initialement significatives (Permanova p-values < 0,01) sauf entre le sable de surface et le sable profond (p-value = 0,39).

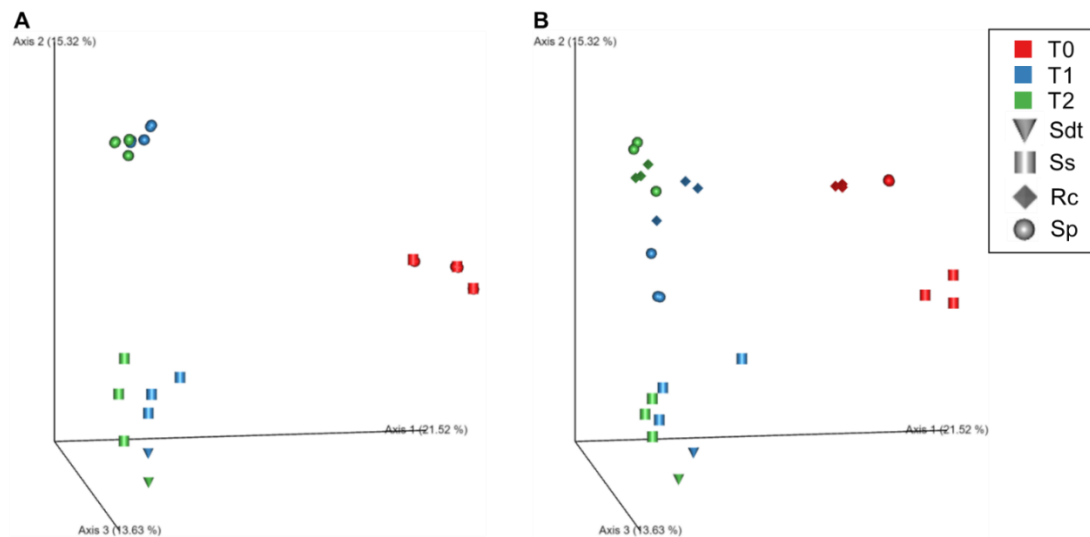


Figure 3.25 : Analyse en coordonnées principales (PCoA) basée sur les distances Bray-Curtis (diversité bêta) des **bactéries** des différents échantillons lors des trois campagnes de prélèvement. Les échantillons sont séparés selon le filtre (A : filtre FS ; B : filtre FR). Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond. Les trois premiers axes expliquent 50,5 % de la variabilité totale des échantillons.

Au T1, les populations bactériennes des deux FPR se sont déplacées le long de l'axe 1 (Figure 3.25), elles étaient ainsi significativement différentes des initiales pour le sable de surface (p-value = 0,002) et profond (p-value = 0,001), mais pas pour le Rc (p-value = 0,099). Le nombre d'échantillon étant plus faible pour ce substrat, la significativité était alors complexe à obtenir malgré un déplacement aussi visible des communautés que les autres substrats. En effet, les distances entre le sable de surface au temps T0 et T1 étaient alors comprises entre 0,84 et 0,91 ; celles du Rc étaient comprises entre 0,85 et 0,92 ; celles du sable profond étaient comprises entre 0,83 et 0,96. Cela indique un changement similaire et élevé des populations bactériennes dans les trois substrats entre T0 et T1. Au T1, le sédiment était à présent formé en surface ; les échantillons se sont alors différenciés selon la profondeur du substrat avec le temps : le sable de surface et sédiment étaient regroupés ensemble (distances entre les deux substrats comprises au T1 entre 0,46 et 0,79), tandis que le sable profond et le Rc (lorsqu'il était présent) étaient regroupés ensemble (distances comprises entre 0,45 et 0,59). Les différences entre ces deux groupes étaient alors plus importantes qu'initialement (Figure 3.25). Tous les substrats étaient toutefois composés de communautés bactériennes significativement différentes, même ceux regroupés ensemble (p-values < 0,03 sauf pour la comparaison sédiment-RC où p-value = 0,101 lié au faible nombre d'échantillon des deux substrats). Dans le filtre FR, les différences étaient moins marquées entre les échantillons de surface et profond à ce pas de temps.

Enfin, lors de la dernière campagne (T2), les communautés bactériennes sont restées proches de celles mesurées au T1 mais elles étaient encore légèrement plus éloignées des communautés initiales (Figure 3.25). Cette légère différence de communautés entre T1 et T2 était significative pour le sable de surface et profond (p-values < 0,005) mais pas pour le sédiment ni le Rc (pour les mêmes raisons que précédemment) : distances entre le sable de surface au T1 et T2 comprises entre 0,65 et 0,87 ; distances entre le sable profond au T1 et T2 comprises entre 0,67 et 0,83 ; distances entre le Rc au T1 et T2 comprises entre 0,64 et 0,72 ; distances entre le sédiment au T1 et T2 comprises entre 0,64 et

0,70. Les substrats étaient au T2 toujours composés de communautés bactériennes significativement différentes (p -values $< 0,046$), sauf entre le sédiment et Rc (p -value = $0,109$). Les différents échantillons d'un même substrat étaient également plus rapprochés entre eux dans le filtre FR qu'au T1 et T0. Les communautés du sable profond et du Rc étaient encore plus similaires et le sédiment était le substrat le plus éloigné des substrats profonds. Cette évolution décrite en deux ans de suivi était similaire pour le filtre FS et FR, n'indiquant pas d'impact du FPR.

L'évolution **horizontale** est une variable qui a moins impacté les communautés bactériennes que le temps et la localisation verticale. L'impact horizontal peut toutefois être observé au niveau du sable de surface. En effet, au T1, celui de la zone amont des deux FPR était plus proche du sédiment sur la PCoA tandis que le sable profond était le plus éloigné (Annexe 3-31). L'indice de distance BC entre le sédiment et le sable en amont était de $0,46$ et $0,50$ tandis qu'avec le sable en aval, il était de $0,69$ et $0,79$ pour FS et FR respectivement. Au T2, cette différence horizontale était moins marquée mais existait toujours pour les deux FPR : les distances comparées au sédiment étaient de $0,46$ avec le sable amont et étaient de $0,62$ avec le sable aval des deux FPR. Ainsi, même si le temps a eu tendance à lisser les différences entre les trois zones pour les différents substrats (Figure 3.25), le sable de surface en amont présentait des communautés bactériennes plus proches du sédiment que celui en aval

La Figure 3.26 présente maintenant une PCoA des indices de BC pour les communautés **fongiques** de tous les échantillons récupérés au cours de cette étude, séparés selon le filtre. Tout d'abord, contrairement aux bactéries, seules les communautés fongiques du sable de surface et du Rc étaient significativement différentes au T0 (indice de distance BC entre $0,71$ et $0,91$, p -values $< 0,009$), le sable profond ne montrait pas de différence avec le Rc. L'évolution **temporelle** des communautés fongiques était ensuite similaire à celle des bactéries ; le temps a induit d'une part une forte différenciation des communautés fongiques par rapport aux initiales, le long de l'axe 1 (Figure 3.26). Les différences entre chaque substrat étaient plus marquées entre T0-T1 qu'entre T1-T2, mais elles étaient toutes significatives (p -values $< 0,006$) sauf pour le Rc et sédiment (par manque d'échantillon). Le temps a également induit une différenciation des communautés selon la localisation verticale, séparant plus nettement qu'au T0 celles en surface (sable et sédiment) de celles en profondeur (Rc et sable). Cependant, contrairement aux bactéries, les populations fongiques du sable profond et du Rc sont restées similaires au T1 et T2 (p -values $> 0,12$). Les autres substrats étaient caractérisés par des communautés fongiques significativement différentes au T1 (p -values $< 0,041$) et au T2 (p -values $< 0,038$).

En termes d'évolution **horizontale**, les résultats ont indiqué que le sable de surface en amont du filtre FS était plus proche (indice de distance BC de $0,49$) du sédiment que dans les autres zones (indice de $0,57$ et $0,65$ au centre et aval respectivement) au T2 uniquement (Annexe 3-31). Le filtre FR n'a pas montré de fortes différences. La localisation horizontale semble avoir peu influencé les communautés fongiques des deux FPR.

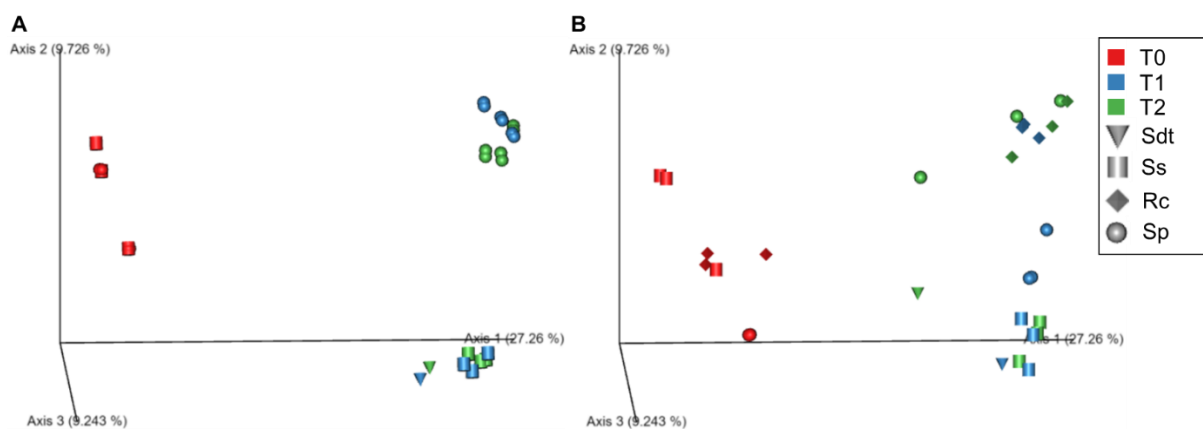


Figure 3.26 : Analyse en coordonnées principales (PCoA) basée sur les distances Bray-Curtis (diversité bêta) des **champignons** des différents échantillons lors des trois campagnes de prélèvement. Les échantillons sont séparés selon le filtre (A : filtre FS ; B : filtre FR). Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond. Les trois premiers axes expliquent 46,2 % de la variabilité totale des échantillons.

Les résultats ont donc montré que le **temps** était le principal facteur ayant différencié les échantillons en termes de communautés microbiennes, avec un déplacement des populations de droite à gauche au fil du temps (axe 1). Les axes 2 et 3 montrent, dans une moindre mesure, l'impact de la **profondeur**, distinguant les communautés du sable de surface et du sédiment d'un côté, et du Rc et du sable profond de l'autre. Les similarités entre le sable de surface et le sédiment ne pouvaient pas seulement s'expliquer par l'accumulation de sédiment entre les grains de sable ; il n'était pas présent sur l'ensemble des FPR, pourtant le sable au centre et aval étaient également proches du sédiment. L'homogénéisation entre le sable de surface et le sédiment s'explique par l'alimentation en eau verticale, enrichissant préférentiellement ces couches en carbone organique, même en aval. L'apport de communautés exogènes par les eaux n'a pas été étudié, mais cela pourrait également expliquer l'homogénéisation du sable et sédiment. Le Rc et sable profond ont tout de même été impactés par l'alimentation des FPR puisque les communautés ont évolué avec le temps également. Le temps et la localisation verticale étaient donc les deux variables expliquant majoritairement les différences de communautés bactériennes entre les échantillons. Cela s'explique par le début de l'alimentation en eau des FPR, un an a suffi pour significativement modifier les communautés microbiennes, mais une année supplémentaire ne les a pas fortement modifiées suggérant que les conditions sont restées similaires (qualité de l'eau notamment) et que les populations microbiennes étaient adaptées dès un an. Malgré des similitudes en diversité alpha, la structure des communautés bactériennes était influencée par la profondeur.

Concernant la localisation horizontale, le sable de surface en amont présentait des communautés microbiennes plus proches du sédiment que celui en aval. Cela est directement relié à la présence de sédiment en amont uniquement par les particules filtrées majoritairement dans le sable de surface en amont. La forte hétérogénéité d'activités enzymatiques dans le sable de surface ne s'expliquait donc pas par des communautés microbiennes structurellement différentes. Les communautés microbiennes sont donc relativement similaires dans cette couche mais plus actives en amont grâce aux apports des eaux de ruissellement qui les stimulent.

XI.4.4.3. Evolution de l'abondance relative des différents taxons microbiens

La composition des communautés bactériennes et fongiques a été évaluée dans chaque substrat et campagne.

La Figure 3.27 illustre l'abondance relative des phyla bactériens dominants (abondance > 1 %) dans les différents substrats lors des trois campagnes (les valeurs d'abondance sont données en Annexe 3-32. Un total de 45 phyla a été détecté, dans lesquels 7 phyla bactériens dominaient (abondance > 1 %) dans les différents substrats : Proteobacteria, Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Acidobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes et Nitrospirae. Ils représentaient entre 97,8 et 99,1 % du total des communautés bactériennes pour le sédiment, entre 97,3 et 99,2 % pour le sable de surface, entre 96,9 et 99,0 % pour le Rc et entre 95,9 et 99,1 % pour le sable profond (toutes les campagnes et filtres confondus). Les **Proteobacteria** constituaient systématiquement le phylum dominant dans tous les substrats, variant entre 57,9 et 66,9 % dans le sédiment, entre 44,2 et 75,4 % dans le sable de surface, entre 68,0 et 87,3 % dans le Rc et entre 61,3 et 75,4 % dans le sable profond. Ce phyla était majoritairement constitué des classes Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Deltaproteobacteria et Gammaproteobacteria. Les **Actinobacteria** étaient le second phyla le plus abondant, représentant 10,3 à 23,3 % dans le sédiment, 10,1 à 45,4 % dans le sable de surface, 5,7 à 10,8 % dans le Rc et 9,7 à 29,1 % dans le sable profond. Les **Bacteroidetes** étaient le troisième phyla le plus abondant, représentant 7,5 à 15,6 % dans le sédiment, 1,2 à 12,8 % dans le sable de surface, 1,8 à 9,2 % dans le Rc et 1,5 à 10,0 % dans le sable profond. Les phyla les moins abondants comprenaient donc les Gemmatimonadetes (entre 1,2 et 5,6 % tous substrats confondus), Acidobacteria (entre 0,2 et 5,9 %), Firmicutes (entre 0,3 et 7,9 %) et Nitrospirae (entre 0,3 et 7,9 %).

Dans les sols naturels, les Proteobacteria dominent le plus souvent (Janssen, 2006), et les quelques études de caractérisation des communautés microbiennes dans des OGEP ont également montré qu'elles dominaient également, les abondances relatives variaient entre 30 et 64 % (Rotaru et al., 2011 ; Badin et al., 2012 ; Gill et al., 2017b ; Hong et al., 2018 ; Gill et al., 2020 ; Li et al., 2021 ; Geronimo et al., 2022) mais étaient plutôt autour de 40 % dans du sable de FPR (Geronimo et al., 2022). Après deux ans de fonctionnement, l'abondance relative de cet embranchement dans les différents substrats des

FPR était plus importante que dans la littérature, les valeurs variant de 55 à 69 % (avec des abondances relatives encore plus importantes au T0). Cet embranchement est le plus diversifié sur le plan génotypique, il est connu pour présenter une diversité métabolique très importante, leur rôle est important pour les cycles du carbone, du soufre et de l'azote (Geronimo et al., 2022 ; Kersters et al., 2006). C'est donc un embranchement d'une grande importance biologique. Les Alphaproteobacteria dominent généralement, ce qui était également le cas dans cette étude ; ce groupe microbien contient de nombreuses bactéries fixatrices d'azote et des organismes méthylophiles (Zhang et Xu, 2008). L'abondance relative importante de cet embranchement implique qu'il est le plus métaboliquement actif dans les FPR.

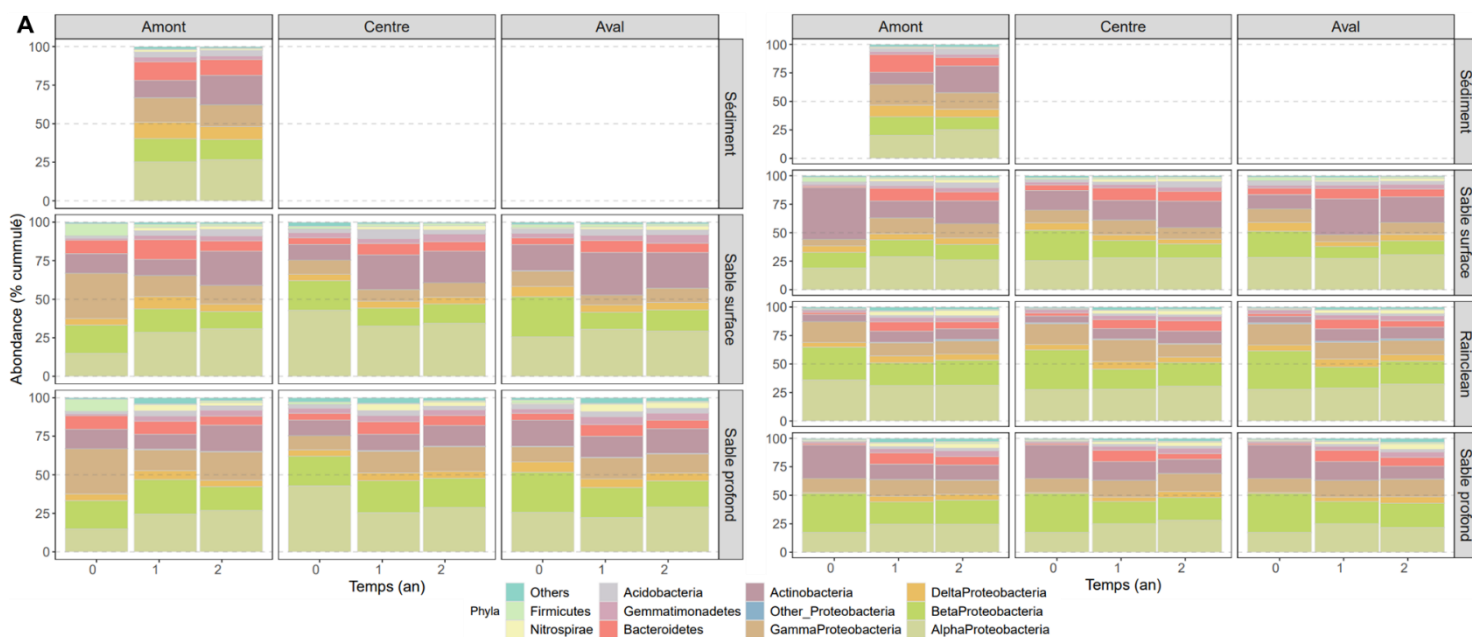


Figure 3.27 : Abondance relative (%) des phyla bactériens les plus abondants (>1%) dans les différents substrats, aux différentes localisations et campagnes. Les protéobactéries sont divisées en classes et les phylums bactériens dont l'abondance relative est inférieure à 1% sont regroupés dans « others ».

Les Actinobacteria dominaient ensuite dans tous les substrats, il s'agit d'un groupe microbien également répandu dans les OGEP, et c'était également le deuxième embranchement dominant dans du sable de FPR (Geronimo et al., 2022) et dans un sol de surface de noues (Li et al. 2021), à des abondances relatives du même ordre de grandeur (11 à 17% dans les deux études) que la présente étude. Cet embranchement joue un rôle important dans la décomposition des matières organiques donc dans le cycle du carbone. Les bactéries le composant participent à la dégradation de composés organiques réfractaires grâce à leur capacité de dégrader des mélanges complexes de polymères (Anandan et al. 2016). Les Actinobacteries favorisent également la croissance des plantes par phytostimulation (Hazarika et Thakur, 2020). La présence de ces deux embranchements dans tous les substrats, particulièrement dans le sédiment et sable de surface (16 et 21% en moyenne au T2 contre 10 et 14% dans le Rc et sable au T2) indique qu'elles ont la capacité de participer à la dégradation des MPO dans les FPR.

Enfin, les Bactéroidetes, également abondantes dans les deux FPR étaient retrouvés en abondances relatives différentes selon les études (entre 1 et 20%), dans la seule étude en contexte de FPR (Geronimo et al., 2022), leur abondance relative était comprise entre 5 et 12% soit du même ordre de grandeur que dans la présente étude. Leur présence était enrichie en présence d'ETM, indiquant qu'elles sont riches et résistantes dans ce contexte (Ding et al., 2017 ; Li et al., 2019). Cet embranchement était plus important dans le sédiment (11% contre entre 7 et 8% dans les autres couches) ; des abondances relatives élevées de Bacteroidetes ont déjà été rapportées dans des sédiments provenant d'OEGP (Badin et al., 2012) et de FPR pour le traitement de diverses eaux usées (Desta et al., 2014 ; Sánchez, 2017). Leur plus forte abondance relative pourrait être reliée à la plus

forte contamination du sédiment en MPO, puisque ce phylum est connu pour sa capacité à dégrader des composés organiques complexes tels que les composés aromatiques (Desta et al., 2014).

En revanche, les Acidobacteria étaient le 2^{ème} phyla dominant dans la seule étude ayant caractérisés les bactéries dans une zone humide aménagée pour le traitement des eaux de ruissellement (11 à 13 %, Geronimo et al., 2022). Dans la présente étude, cet embranchement était très peu abondant dans tous les substrats (1,2 à 5,9 %). L'ajout de polluants, en particulier de polluants organiques, dans le RBF pourrait augmenter la disponibilité des sources de carbone, limitant ainsi la croissance des Acidobacteria, qui sont adaptées à une faible disponibilité (Naether et al., 2012).

Le **sédiment** est la couche ayant le moins évolué dans le temps, entre T1 et T2. Une légère diminution des Proteobacteria (66,9 et 65,2 au T1 contre 62,3 et 57,9 % au T2 pour FS et FR) a été observée dans les deux FPR entre T1 et T2 en raison de la diminution de l'abondance relative des Deltaproteobacteria, Gammaproteobacteria et Betaproteobacteria. Une légère diminution des Bacteroidetes a également été observée (12,1 et 15,6 % au T1 contre 10,2 et 7,5 % au T2 dans les filtres FS et FR). En revanche, les Actinobacteria ont plus fortement augmenté dans les deux FPR avec le temps (11,1 et 10,3 au T1 contre 19,0 et 23,3 au T2 pour FS et FR), elles étaient 1,7 à 2,6 fois plus abondantes au T2 dans le filtre FS et FR respectivement. Les phyla bactériens étaient répartis de façon homogène entre les deux FPR.

Concernant le **sable de surface**, plus de différences ont été observées dans le temps et l'espace. Le Tableau 3.23 fourni les coefficients de corrélation de Spearman entre les phyla bactériens et le temps. Tout d'abord, la proportion des Proteobacteria a eu tendance à diminuer avec le temps (coefficient de 0,63 non significatif dans le filtre FS), excepté en amont du filtre FR où la tendance inverse était observée et en amont de FS où la diminution était plus faible. Dans le filtre FS, les abondances relatives des Betaproteobacteria et Firmicutes étaient significativement négativement corrélées avec le temps (Tableau 3.23 coefficients de corrélation de -0,69 et -0,84 respectivement, p-values < 0,042) tandis que les abondances relatives des Nitrospirae étaient significativement positivement corrélées avec le temps (coefficient de 0,95, p-value = 0,0001). Dans le filtre FR, les abondances relatives des Betaproteobacteria étaient significativement négativement corrélées avec le temps (coefficient de -0,69, p-value = 0,042) tandis que les abondances relatives des Gemmatimonadetes et Nitrospirae étaient significativement positivement corrélées avec le temps (coefficients de 0,84 et 0,95, p-value = 0,004).

Ainsi, le temps a significativement favorisé le développement Nitrospirae et a défavorisé le développement des Betaproteobacteria dans le sable de surface des deux FPR. La proportion des Gemmatimonadetes a également eu tendance à augmenter avec le temps (significativement dans FR uniquement) et celle des Firmicutes à diminuer (significativement dans FS uniquement).

Pour le **Rc**, plus de différences significatives dans le temps ont été observées. Tout d'abord, l'abondance relative des Proteobacteria était significativement négativement corrélée avec le temps pour toutes les zones de façon homogène (coefficient de -0,69, p-value = 0,042), avec une diminution de 16 à 21 % entre T0 et T2. Avec le temps, les corrélations montrent que la proportion Gammaproteobacteria a significativement diminué dans ce substrat (Tableau 3.23 coefficient de -0,69, p-value = 0,042), tandis que celle des Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Nitrospirae a significativement augmenté avec le temps (coefficients de 0,79, 0,84 et 0,90 respectivement, p-values < 0,011).

Enfin, le **sable profond** a montré moins d'évolution des Proteobacteria dans le temps. Dans le filtre FS, peu d'évolution significative a été observée, les Gemmatimonadetes étant le seul phyla corrélé positivement avec le temps (coefficient de 0,69, p-value = 0,042). En revanche, dans le filtre FR, plus d'évolutions significatives ont été observées. Les Deltaproteobacteria, Acidobacteria et Nitrospirae étaient significativement positivement corrélées avec le temps (coefficients de 0,97, p-values < 10⁻⁵) tandis que les Actinobacteria étaient négativement corrélées avec le temps (coefficient de -0,97, p-values < 10⁻⁵). Les abondances relatives étaient relativement similaires entre les deux FPR au T2, indiquant que la diversité bactérienne variait peu après 10 cm de profondeur.

Tableau 3.23 : Matrices de corrélation de Spearman des phyla bactériens des différents substrats de chaque filtre avec le temps. Les coefficients de corrélation en gras avec un * sont significatifs (p -value < 0,05). Le nombre d'échantillon utilisé pour chaque comparaison est indiqué ($n = x$).

| Paramètre | FS Sable surface (T0- T1-T2) n = 9 | FR Sable surface (T0- T1-T2) n = 9 | FR Rc (T0- T1-T2) n = 9 | FS Sable profond (T0- T1-T2) n = 9 | FR Sable profond (T0- T1-T2) n = 9 |
|----------------------|---|---|-------------------------------|---|---|
| | Temps | Temps | Temps | Temps | Temps |
| Alphaproteobacteria | 0,32 | 0,37 | 0,42 | 0,32 | 0,65 |
| Betaproteobacteria | -0,69 * | -0,69 * | -0,47 | -0,53 | -0,48 |
| Deltaproteobacteria | 0,26 | -0,63 | 0,37 | -0,05 | 0,97 * |
| Gammaproteobacteria | -0,21 | 0,11 | -0,69 * | 0,32 | 0,48 |
| Other Proteobacteria | -0,26 | -0,21 | 0,37 | 0,63 | 0,97 * |
| Proteobacteria | -0,63 | -0,32 | -0,69 * | -0,47 | -0,22 |
| Actinobacteria | 0,58 | 0,26 | 0,79 * | 0,37 | -0,97 * |
| Bacteroidetes | 0,05 | 0,47 | 0,63 | 0,00 | 0,48 |
| Gemmatimonadetes | 0,63 | 0,84 * | 0,84 * | 0,69 * | 0,97 * |
| Acidobacteria | 0,37 | 0,63 | 0,47 | 0,26 | 0,97 * |
| Nitrospirae | 0,95 * | 0,95 * | 0,90 * | 0,47 | 0,97 * |
| Firmicutes | -0,84 * | -0,58 | 0,47 | -0,47 | 0,00 |
| Others | -0,58 | -0,26 | 0,47 | 0,16 | 0,81 * |

Les communautés bactériennes au niveau du phylum ont donc évolué dans le temps. Mis à part le sable profond, l'abondance relative des Proteobacteria dans les autres substrats a diminué avec le temps au profit d'autres phyla initialement faiblement représentés, ce phyla restant tout de même dominant dans tous les échantillons. *Fraser et al. (2018)* ont également révélé une diminution de l'abondance relative des Proteobacteria dans du sable neuf colonisé avec le temps dans des colonnes recevant des eaux de ruissellement synthétiques, mais n'ont pas discuté ces résultats. Une hypothèse serait leur prépondérance initialement dans le sable en raison de leur métabolisme important et rapide dans un milieu pauvre en carbone organique qui s'enrichi avec le temps, impliquant le développement d'autres communautés dans ce milieu plus favorable (*Kersters et al., 2006*). Il est important tout de même de rappeler que les résultats sont en relatifs, l'abondance bactérienne ayant augmenté (nombre de taxons, NPP), l'abondance des Proteobacteria a pu rester constante voire augmenter, mais le développement des autres embranchements induit une plus faible abondance relative. Les Bétaproteobactéria sont les Proteobacteria ayant montré une tendance à la diminution avec le temps la plus homogène, les coefficients étaient négatifs pour tous les substrats (entre -0,47 et -0,69, Tableau 3.23). Les Gammaproteobacteria ont également été appauvris dans le Rc. De l'autre côté, les Gemmatimonadetes (coefficient entre 0,63 et 0,97), Nitrospirae (coefficient entre 0,47 et 0,97) et plus faiblement les Acidobacteria (coefficient entre 0,26 et 0,97) ont montré une tendance homogène à l'augmentation avec le temps pour tous les substrats. Cela indique une pression de sélection des communautés bactériennes par l'eau de ruissellement circulant dans les différents substrats, qui était relativement homogène entre les substrats des FPR. L'évolution selon le temps était surtout visible après un an de fonctionnement (T0-T1), où les variations d'abondances relatives étaient les plus marquées par rapport à après deux ans (T1-T2). Environ un an de fonctionnement semble donc suffire aux FPR pour significativement modifier leurs communautés bactériennes en réponse aux nouvelles eaux, qui varient moins par la suite (à ce niveau temporel). La diminution des Proteobacteria au profit qu'autre embranchements moins abondants initialement explique donc l'augmentation observée de la diversité alpha avec le temps et de l'éloignement des populations entre elles, représentée par la beta-diversité, surtout entre T0 et T1.

Les abondances relatives des phyla bactériens des deux FPR étaient également plus différentes au temps initial qu'après 1 et 2 ans de fonctionnement, indiquant une homogénéisation des communautés par les apports similaires d'eaux chargées. Dans le sable de surface, les Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Bacteroidetes et Actinobacteria avaient des abondances relatives initialement différentes selon le FPR tandis qu'après 2 ans de fonctionnement, les Bactéroidetes et

Alphaproteobacteria seulement avaient des abondances relatives différentes. De plus, le sable profond du filtre FR a plus fortement évolué avec le temps que celui du filtre FS. Le Rc avait probablement impacté initialement le sable sous-jacent, mais recevant les mêmes eaux, les communautés profondes se sont homogénéisées avec le temps.

Finalement, la Figure 3.28 représente une ACP des phyla bactériens mesurées dans les différents échantillons lors de la campagne T2 uniquement. La variabilité des données était bien expliquée (63 %) par les abondances relatives des phyla bactériens. Ce graphique permet de mettre en évidence des différences d'abondances relatives selon les substrats. Au T2, le sédiment était plus corrélé aux Deltaproteobacteria et a plus faible mesure aux Bacteroidetes et Acidobacteria. Le sable de surface était plus corrélé aux Actinobacteria et à plus faible mesure aux Acidobacteria Firmicutes et Alphaproteobacteria. Le Rc était quant à lui plus corrélé aux autres phyla en abondance relative < 1 % (Others) et aux autres Proteobacteria que les principales présentées, mais également en Betaproteobacteria et à plus faible mesure en Nitrospirae. La corrélation plus importante de ce substrat avec des populations faiblement abondantes expliquerait le plus fort indice de Shannon observé. Le sédiment, sable de surface et Rc étaient très bien séparés sur le plan factoriel, le clustering hiérarchique de l'ACP a montré qu'ils étaient significativement différents en termes de composition des phyla bactériens (Annexe 3-34). En revanche, la composition du sable profond des deux FPR et du Rc était similaire, il en a résulté aucune différence entre ces deux substrats sur le clustering hiérarchique. Cela indique que la profondeur a impacté la sélection des embranchements bactériens avec le temps, ce qui est cohérent avec les observations de la diversité beta. Le sable profond du filtre FS était peu corrélé à un phylum en particulier, et celui du filtre FR était caractérisé par les mêmes phyla les plus abondants que le Rc. Cette figure permet de montrer qu'après deux ans d'alimentation en eau de ruissellement, les communautés bactériennes du sédiment et du sable de surface étaient plus proches (clustering hiérarchique, Annexe 3-34) en termes d'abondances relatives des phyla majoritaires que le Rc et le sable profond, qui eux étaient faiblement différents. L'observation était cependant moins nette qu'avec la diversité beta, indiquant que la profondeur d'étude (embranchements seulement) n'était pas suffisante pour observer pleinement l'impact des eaux de ruissellement sur le sable de surface.

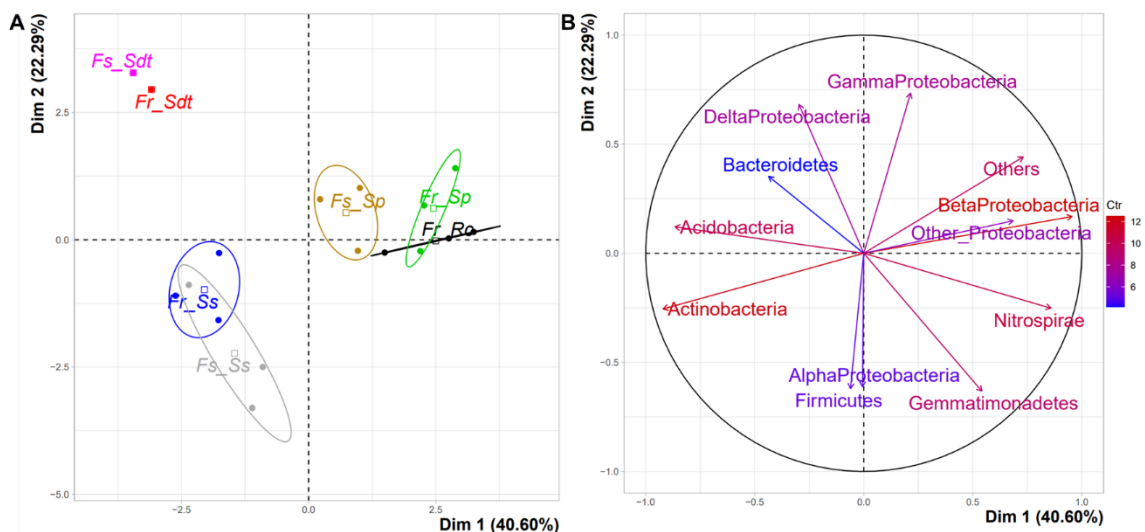


Figure 3.28 : ACP des différents substrats lors de la campagne T2. A : Graphique des individus : projection de la variabilité de l'ensemble des données du T2 sur une carte factorielle des deux premiers axes discriminants. Ss : sable de surface ; Sp : sable profond ; Sdt : sédiment. B : Graphique des variables : cercle de corrélation des vecteurs des variables étudiées (les 7 phyla bactériens, les Proteobacteria étant subdivisées selon leurs classes). Les deux premiers axes expliquent 63 % de l'inertie totale du jeu de données.

La Figure 3.29 illustre maintenant l'abondance relative des phyla fongiques dominants (abondance > 1 %) dans les différents substrats lors des trois campagnes (les valeurs d'abondance relative sont données en Annexe 3-33). Un total de 16 phyla a été détecté, dans lesquels 10 phyla fongiques dominaient (abondance > 1 %) dans les différents substrats : Ascomycota, Basidiomycota, Rozellomycota, Chytridiomycota, Zoopagomycota, Mortierellomycota, Glomeromycota, Mucoromycota, Blastocladiomycota et un phyla non identifié. Ils représentaient entre 99,9 et 100 % du total des

communautés bactériennes pour le sédiment, entre 99,6 et 100 % pour le sable de surface, entre 99,0 et 100 % pour le RC et entre 99,1 et 100 % pour le sable profond (toutes les campagnes et filtres confondus). Les **Ascomycota** constituaient le phylum dominant dans tous les substrats, variant entre 75,2 et 91,8 % dans le sédiment, entre 14,3 et 96,3 % dans le sable de surface, entre 65,1 et 84,7 % dans le Rc et entre 14,3 et 90,4 % dans le sable profond. Les autres phyla fongiques les plus abondants variaient plus selon le substrat et le temps considéré. Le nombre d'embranchement fongique plus faible explique la plus faible diversité alpha observée dans ces échantillons par rapport à la diversité bactérienne.

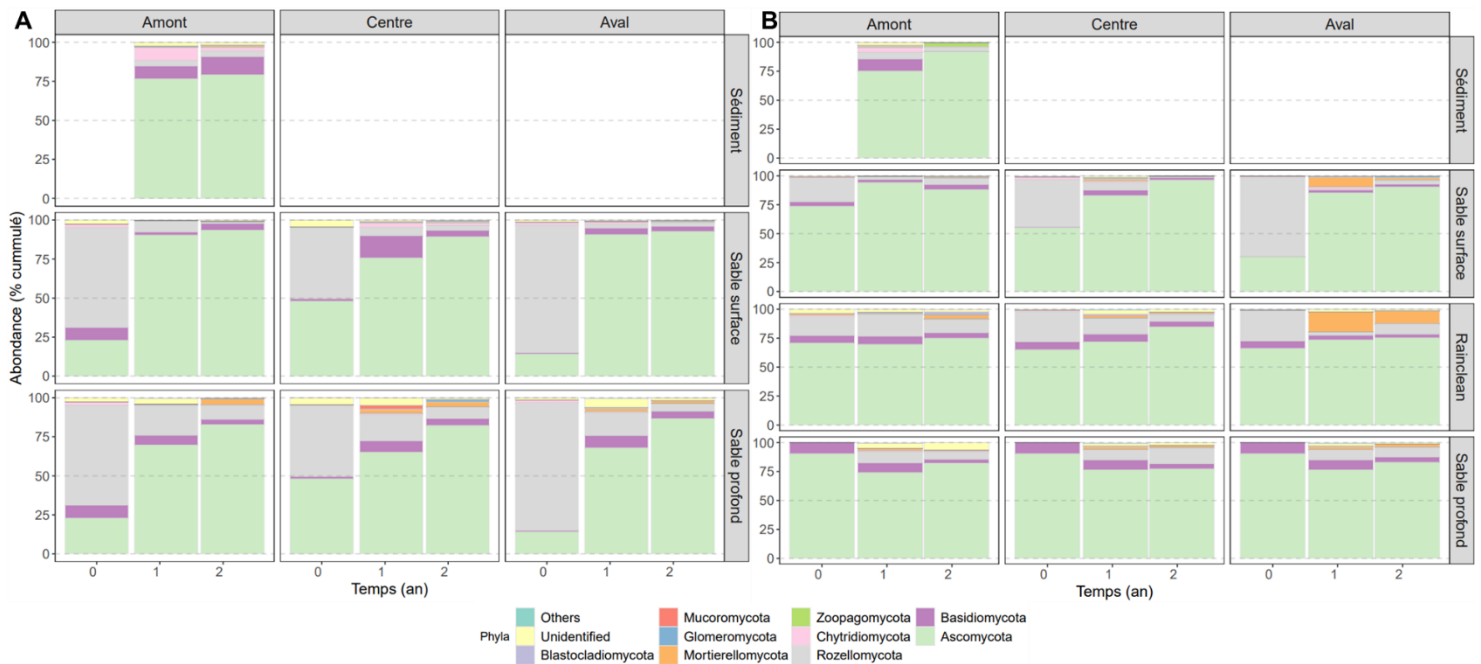


Figure 3.29 : Abondance relative (%) des phyla **fongiques** les plus abondants (>1 %) dans les différents substrats, aux différentes localisations et campagnes. Les phyla fongiques dont l'abondance relative est inférieure à 1 % sont regroupés dans « others ».

Dans le **sédiment**, l'abondance relative des Ascomycota et plus faiblement des Zoopagomycota a eu tendance à augmenter dans FR surtout (Annexe 3-33). Par opposition, les Chytridiomycota ont eu tendance à diminuer entre T1 et T2 dans les deux FPR. Enfin, les Basidiomycota ont stagné dans FS tandis qu'ils ont diminué dans le FR. Ainsi, le sédiment a montré plus de différences d'abondances relatives des phyla fongiques au T2 entre les deux FPR par rapport aux phyla bactériens. Le filtre FR était caractérisé par une abondance relative plus élevée d'Ascomycota (91,8 contre 75,2 % dans FR et FS) et Zoopagomycota (3,4 contre 0,1 %) mais des abondances relatives plus faibles de Basidiomycota (0,2 contre 11,6 % dans FR et FS) et Chytridiomycota (0 contre 2,4 %). Ces résultats expliquent la diversité alpha dans le sédiment de FR plus faible au T2 et la diminution des différences de beta diversité entre le sédiment du T2 et les échantillons du T0.

Concernant le **sable de surface**, plus de différences ont été observées dans le temps. Le Tableau 3.24 fourni les coefficients de corrélation de Spearman entre les phyla fongiques et le temps. Pour FS, les abondances relatives des Ascomycota surtout, mais également des Mortierellomycota et Zoopagomycota étaient significativement positivement corrélées avec le temps (coefficients de corrélation de 0,84, 0,75 et 0,85 respectivement, p-values < 0,020) tandis que les abondances relatives des Rozellomycota et du phyla non identifié étaient significativement négativement corrélées avec le temps (coefficients de -0,90 et -0,74 , p-values < 0,023). Pour FR, les abondances relatives des Ascomycota surtout mais également des Glomeromycota étaient significativement positivement corrélées avec le temps (coefficients de corrélation de 0,84, 0,69 respectivement, p-values < 0,040) tandis que l'abondance relatives des Rozellomycota était significativement négativement corrélées avec le temps (Tableau 3.24 coefficients de -0,69 , p-values < 0,042). Dans les deux FPR, le temps a donc significativement favorisé le développement des champignons appartenant au phyla des Ascomycota

et a défavorisé le développement des Rozellomycota. Les Mortierellomycota et Zoopagomycota ont également eu tendance à augmenter avec le temps (significativement dans FS uniquement). Les Ascomycota dominaient largement sur les autres phyla pour les deux FPR au T2, avec des abondances relatives assez homogènes entre eux (89,4 à 93,5 % pour FS et 88,0 à 96,3 % pour FR au T2).

Pour le **Rc**, des différences dans le temps, plus faibles que le sable de surface, mais significatives ont également été observées. Même si l'augmentation de leurs abondances relatives avec le temps étaient plus faibles que dans le sable, une corrélation significativement positive a été obtenue pour les Ascomycota (coefficient de -0,90, p-value = 0,001) et les abondances relatives en Rozellomycota étaient significativement négativement corrélées au temps (coefficient de -0,74, p-value = 0,023). Ce substrat présentait donc plus de différences en abondances relatives de phyla fongiques que bactériens.

Enfin, le **sable profond** a montré des différences d'abondances relatives dans le temps, différemment selon le FPR. Pour FS, beaucoup d'évolution significatives ont été observées. Les abondances relatives des Ascomycota et à plus faible échelle des Mortierellomycota et Mucoromycota étaient significativement positivement corrélées avec le temps (Tableau 3.24 coefficients de 0,95, 0,85 et 0,75, p-values < 0,020) tandis que les celles des Rozellomycota et à plus faible échelle des Chytridiomycota étaient négativement corrélées (coefficients de 0,95 et 0,74, p-values < 0,022). Pour FR, moins de corrélations significatives étaient montrées avec le temps, les abondances relatives du phyla non identifié étaient positivement corrélées (coefficients de 0,75, p-values < 0,019) tandis que celles Basidiomycota étaient négativement corrélées (coefficient de -0,97, p-value = 10⁻⁵). En comparant les deux FPR au dernier pas de temps (T2), le filtre FS avait des abondances relatives légèrement plus élevées en Mortierellomycota, en Glomeromycota et le filtre FR avait des abondances plus élevées en phyla non identifié et en Chytridiomycota (Annexe 3-33). Le sable de FR est le seul substrat où l'évolution des Ascomycota n'était pas significative avec le temps, les valeurs ont même eu tendance à légèrement diminuer, surtout entre T0 et T1. Les valeurs finales dans le sable profond des deux filtres étant proche au T2, les différences observées pourraient être dues à la présence du Rc au-dessus du sable profond de FR, dont l'effet a diminué avec l'apport des eaux de ruissellement par la suite.

Tableau 3.24 : Coefficients de corrélation de Spearman obtenus lors de comparaisons multiples des abondances relatives des phyla fongiques des différents substrats avec la variable temps. Les comparaisons avec le temps sont faites pour chaque substrat sauf le sédiment (nombre de valeurs insuffisant). Les coefficients en gras accompagnés d'un * sont significatifs (p-value < 0,05). Le nombre d'échantillon utilisé pour chaque comparaison est indiqué (n = x).

| Paramètre | FS Sable surface (T0-T1-T2) n = 9 | FR Sable surface (T0-T1-T2) n = 9 | FR Rc (T0-T1-T2) n = 9 | FS Sable profond (T0-T1-T2) n = 9 | FR Sable profond (T0-T1-T2) n = 9 |
|--------------------|---|---|---------------------------|---|---|
| | Temps | Temps | Temps | Temps | Temps |
| Ascomycota | 0,84 * | 0,84 * | 0,90 * | 0,95 * | -0,48 |
| Basidiomycota | 0,26 | 0,26 | -0,58 | 0,00 | -0,97 * |
| Rozellomycota | -0,90 * | -0,69 * | -0,74 * | -0,95 * | 0,65 |
| Chytridiomycota | -0,37 | -0,58 | -0,47 | -0,74 * | 0,65 |
| Zoopagomycota | 0,85 * | 0,60 | 0,29 | 0,29 | 0,00 |
| Mortierellomycota | 0,75 * | 0,59 | 0,58 | 0,85 * | 0,65 |
| Glomeromycota | 0,38 | 0,69 * | 0,58 | 0,53 | 0,42 |
| Mucoromycota | 0,63 | 0,35 | 0,26 | 0,75 * | 0,48 |
| Blastocladiomycota | 0,60 | 0,22 | 0,42 | 0,58 | 0,45 |
| Unidentified | -0,74 * | -0,42 | 0,05 | -0,42 | 0,75 * |
| Others | -0,39 | -0,35 | 0,55 | 0,48 | 0,17 |

Les populations fongiques ont donc fortement évolué dans le temps. Excepté le sable profond du filtre FR, les champignons appartenant au phylum Ascomycota ont colonisé les deux filtres avec le temps, l'augmentation de leur abondance relative était particulièrement élevée après un an de fonctionnement. Ils étaient ainsi largement dominants après 2 ans, représentant au minimum 75 % de la population

fongique des différents échantillons. Les Ascomycota ont le moins évolué dans le Rc et il était finalement le substrat le moins riche en ce phylum, probablement lié à sa nature différente. Même si la diversité au sein des phyla semble donc diminuer (domination des Ascomycota), la diversité alpha observée a augmenté avec le temps pour tous les substrats, ce qui indiquerait une augmentation de la diversité surtout au sein des Ascomycota dans cet ouvrage. La réponse de la population fongique à l'alimentation du filtre en eau a donc été différente avec le temps par rapport à la population bactérienne (diminution de la proportion du phyla dominant dans leur cas). Dans une étude à grande échelle, les Ascomycota étaient les champignons dominant systématiquement dans les sols (*Egidi et al., 2019*). Cependant, les champignons ont moins été étudiés que les bactéries, leur caractérisation et les connaissances sur les fonctions qu'ils rendent dans les OGEP l'est encore moins. En contexte de traitement d'eaux de ruissellement par de nombreux toits végétalisés et noues enherbées, *Gill et al. (2020)* ont également révélé que les Ascomycota dominaient (abondance de 70 % en moyenne). Les Ascomycota sont les principaux décomposeurs classiques et dégradeurs de polluants dans les sols, qui jouent un rôle essentiel dans le cycle du carbone (*Usharani, 2019*). Ces espèces favorisent également l'absorption d'ETM par les plantes (*Wu, 2017*). Dans tous les substrats, la proportion de cet embranchement a été augmenté avec le temps, indiquant leur prépondérance et sélection préférentielle dans les FPR avec l'alimentation en eaux qui contient des matières organiques, des nutriments et des micropolluants. Cela indiquerait leur rôle dans le fonctionnement biologique des FPR. L'abondance tendait également à être plus importante dans le sédiment et sable de surface au T2 que dans le sable profond et Rc, ce qui pourrait être lié aux apports plus importants dans ces deux substrats. Cette domination explique le plus faible indice de régularité observé pour les communautés fongiques.

Enfin, les bactéries appartenant au phyla Mortierellomycota ont également colonisé essentiellement le filtre FR dans le sable de surface et Rc de la zone aval majoritairement. Ce phyla semblait être plus abondant dans le sable profond que celui de surface dans les deux FPR.

Cette étude de la diversité génétique des différents échantillons dans le temps et l'espace a permis d'apporter des connaissances sur la composition des communautés microbiennes dans les FPR pour le traitement des eaux de ruissellement. Elle a révélé que le **temps** était le principal facteur ayant impacté les populations (diversité alpha et beta). Les résultats suggèrent qu'un an d'alimentation était suffisant pour que les communautés microbiennes s'acclimatent et se stabilisent aux conditions d'alimentation en eaux de ruissellement chargées. La diversité alpha était importante dans cet ouvrage. L'alimentation des FPR a alors favorisé le développement des Gemmatimonadetes, Nitrospirae et plus faiblement les Acidobacteria et concernant les champignons, les Ascomycota se sont de plus en plus développée. Ces embranchements pourraient jouer un rôle sur l'efficacité épuratoire des FPR et l'élimination des micropolluants. L'impact de la localisation horizontale sur les embranchements sera étudié dans le XI.5. La poursuite de l'étude de leur évolution permettra de constater si la rétention plus importante des micropolluants en amont impacte au long terme les communautés.

L'étude des champignons dans les OGEP ou FPR est encore faible, il est plus complexe de comparer ces données avec d'autres publications. Notamment, un mois sépare les deux prélèvements des FPR lors d'une même campagne (pour T1 et T2) et les températures moyennes la semaine précédant les prélèvements était différente, ce qui pourrait impacter les résultats et donc les comparaisons inter-filtres. Les conditions météorologiques et le temps de ressuyage étaient également différents entre T1 et T2, mais cela n'a pas semblé modifier fortement la diversité génétique. L'humidité étant restée constante (Annexe 3-27) même lors du ressuyage des FPR (ce qui n'était normalement pas prévu par les gestionnaires, mais des débordements au niveau de la tuyau d'alimentation semblent expliquer cela), cela pourrait expliquer les faibles variations malgré un facteur pouvant fortement influencer les communautés fongiques (*Cazelles et al., 2013 ; Hawkes et al., 2011*). Les variations de conditions météorologiques expliqueraient tout de même les légères fluctuations de diversité microbienne observées entre T1 et T2.

Les communautés microbiennes du sédiment étaient moins différentes du sable de surface en termes de diversité génétique contrairement aux activités et abondances microbiennes. Il sera intéressant de voir si ces différences sont visibles à une profondeur d'analyse des taxons plus grande pour pouvoir conclure sur l'impact de la diversité génétique sur la meilleure activité dans le sédiment.

XI.5. Relation entre les paramètres mesurés dans les substrats des FPR

Très peu d'articles ont évalué la dynamique de l'accumulation de sédiment, de micropolluants et des communautés microbiennes dans des OGEP et cela était généralement fait **séparément** (Gilbert, 2012 ; Weijie et al., 2014 ; Huang et al., 2017 ; Font Nájera et al., 2020). Il s'agit d'une première évaluation de l'évolution spatio-temporelle des FPR pour le traitement des eaux de ruissellement. L'accumulation de sédiment et de micropolluants ont été révélés dans les sections XI.1 et XI.2 et sont maintenant mises en parallèle avec la caractérisation des communautés microbiennes.

Au **temps initial**, la Figure 3.30A présente une ACP regroupant l'ensemble des données physico-chimiques, biologiques et de micropolluants pour le sable de surface et le Rc. Le sable profond ne sera pas étudié dans cette partie puisqu'il a très peu évolué dans le temps et l'espace. L'ACP révèle que les deux substrats étaient séparés selon l'axe 1 qui expliquait 60,9 % de la variabilité ; le sable était corrélé avec les paramètres biologiques de façon générale (activités enzymatiques, abondance bactérienne, potentiel fonctionnel, indice de Shannon des bactéries) tandis que le Rc était corrélé avec les paramètres physico-chimiques et les micropolluants, sauf le 4-NP. De plus l'indice de Shannon fongique était le seul paramètre biologique corrélé à ce substrat, révélant que seuls les champignons étaient plus diversifiés dans le Rc. Le second axe qui expliquait seulement 9 % de la variabilité séparait légèrement le sable de surface sans montrer de tendance particulière selon le filtre ou la localisation, indiquant que les différences initiales étaient surtout entre le sable et le Rc, deux substrats très différents.

Après deux ans d'alimentation, les paramètres biologiques répondaient **différemment** à l'alimentation en eaux de ruissellement et selon les substrats des FPR. Tout d'abord, en regroupant le sédiment, sable de surface et Rc (Annexe 3-35), le sédiment était le solide le plus excentré et significativement différent (le long de l'axe 1 représentant 65,8 % de la variabilité), la majorité des paramètres mesurés y étaient corrélés. Il était le moins corrélé à la diversité fongique et bactérienne, au pH et au rapport C/N. Cela indique que cette couche exogène aux FPR est une **composante importante** pour le fonctionnement des FPR puisque d'une part elle permet de concentrer la contamination en surface et en amont, et d'autre part car c'est la couche la plus biologiquement active des FPR, en termes d'abondance, de potentiel fonctionnel et d'activités enzymatiques. Le sédiment était moins corrélé à la diversité fongique indiquant un développement plus faible dans cette couche, et les populations bactériennes étaient moins régulières entre eux (Eveness_B). Sa présence lisse donc les deux différences des deux autres substrats des FPR, ainsi, la Figure 3.30B représente cette même ACP, sans le sédiment.

Au T2, l'ACP a révélé toujours séparer, mais moins fortement, le sable de surface et le Rc qu'initialement, indiquant un rapprochement des propriétés des substrats avec le temps, relié à l'alimentation en eaux dans les FPR. Le Rc n'a pas montré d'évolution importante selon la localisation horizontale, il était légèrement plus corrélé aux différentes variables dans la zone aval. En revanche, le sable de surface s'est différencié avec le temps et l'apport d'eaux de ruissellement, particulièrement dans FS. En amont, le sable de surface était ainsi métaboliquement plus actif que dans les autres zones, mais en termes d'abondance, de diversité alpha bactérienne et de potentiel fonctionnel, la corrélation était négative. Cette ACP permet maintenant de discuter les relations entre les paramètres (Figure 3.30B2). Trois groupes de variables sont visibles sur la figure.

Le premier groupe de variables, corrélé au sable de surface indiquait que les activités enzymatiques étaient ainsi toutes, sauf la déshydrogénase, fortement corrélées au carbone organique accumulé, à l'azote, et aux différents MPO les plus concentrés dans les substrats (4-NP, 4-OP, BPA, indice HC), et plus faiblement à la diversité fongique, à l'indice de régularité bactérienne et au Pb. La présence de carbone organique (carbone et MPO) ainsi que de nutriments favorisait donc l'activité enzymatique dans ce sable de surface en amont. Les corrélations avec les ETM étaient positives également mais plus faibles car ce sont les teneurs qui ont été utilisées et le Rc en contenait naturellement plus. En revanche, les activités enzymatiques étaient négativement corrélées avec le potentiel fonctionnel et la diversité bactérienne, et non corrélées à l'abondance bactérienne et les alkylphénols éthoxylés.

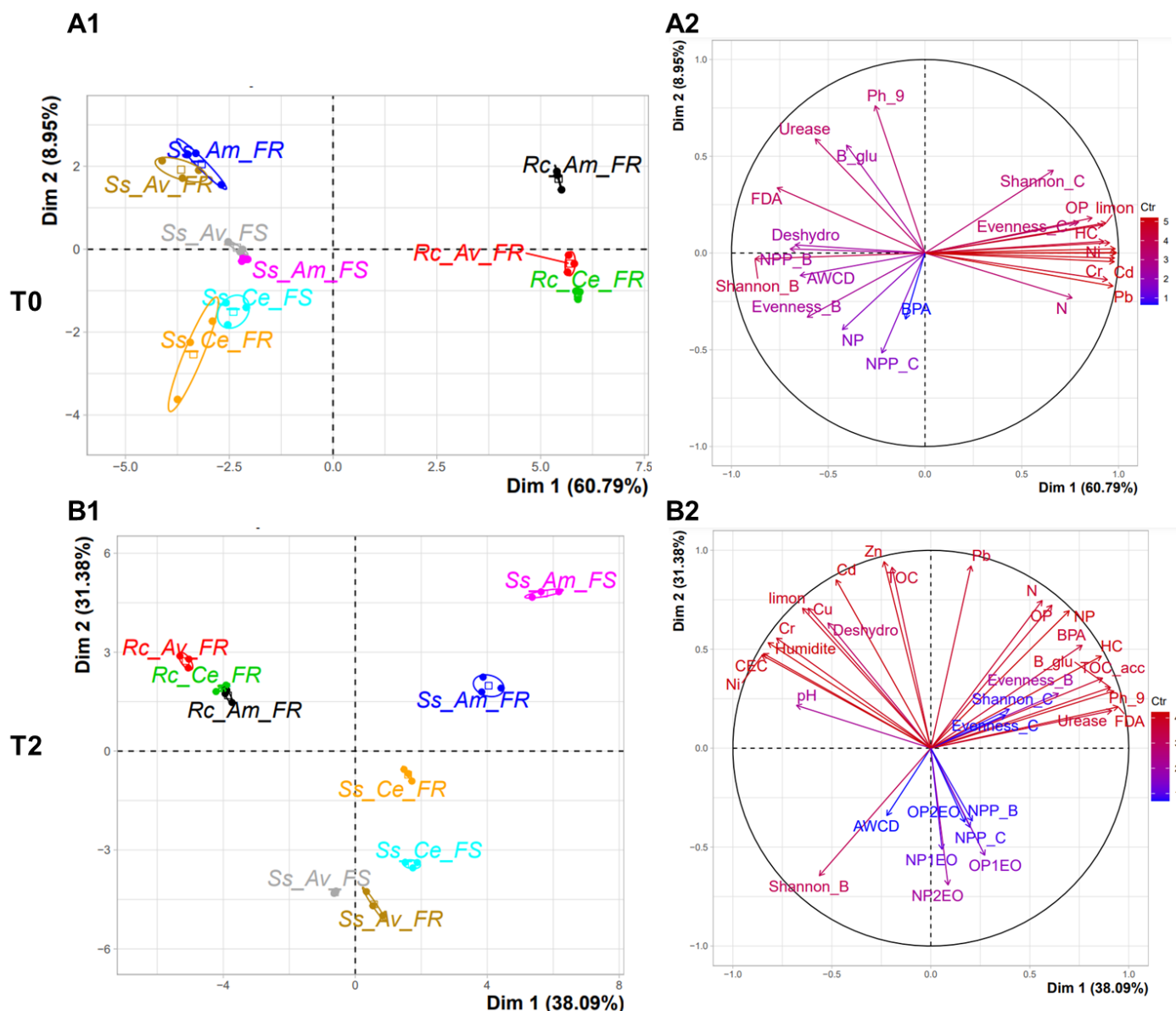


Figure 3.30 : ACP des différents substrats lors de la campagne T0 (A) et T2 (B) dans les filtres FS et FR. A : Graphique des individus : projection de la variabilité de l'ensemble des données du T0 ou T2 sur une carte factorielle des deux premiers axes discriminants. Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Am : amont ; C : centre ; Av : Aval. B : Graphique des variables : cercle de corrélation des vecteurs des variables étudiées. TOC : carbone organique ; TOC_acc : carbone organique accumulé ; pH ; CEC ; Humidité ; % de limon ; N : azote ; FDA : hydrolyse de la FDA ; Deshydro : deshydrogénase ; B_glu β -glucosidase ; Ph_9 : phosphatase basique ; Uréase ; NPP_B : abondance bactérienne ; NPP_C : abondance fongique ; AWCD : potentiel fonctionnel ; Evenness_B : indice de régularité bactérien ; Shannon_C : indice de diversité de Shannon bactérien ; Evenness_C : indice de régularité fongique ; Shannon_C : indice de diversité de Shannon fongique ; Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, indices HC C10-C40, BPA, 4-OP, 4-NP, OP1EO, OP2EO, NP1EO, NP2EO. Les deux premiers axes expliquent 69,74 et 69,47 % de l'inertie totale du jeu de données de T0 et T2 respectivement.

Le second groupe de variables, corrélé avec le Rc indiquait que les ETM étaient corrélés entre eux, avec le Ni, Cr et Cu plus corrélés ensemble et Zn et Pb plus corrélés ensemble. De plus, le Ni, Cr, et plus faiblement le Cu étaient fortement corrélés à la CEC, ce qui indiquerait qu'ils seraient plutôt retenus par des interactions d'adsorption électrostatiques, confirmant leur nature plus dissoute et mobile que le Zn et Pb dans les eaux de ruissellement alimentant les FPR. La déshydrogénase était également corrélée avec les ETM, mais indiquait surtout que cette activité était corrélée avec la profondeur, le Rc étant localisé plus profondément dans le FPR.

Enfin, le dernier groupe de variables, plutôt corrélé au sable de surface en aval (et plus faiblement au centre également) révélait que tous les alkylphénols éthoxylés étaient fortement corrélés entre eux, et également à l'abondance bactérienne et fongique, puis au potentiel fonctionnel et à la diversité bactérienne. Le comportement des MPO était donc différent selon leurs teneurs dans les substrats avec les plus concentrés corrélés avec l'amont, et les moins concentrés corrélés avec l'aval. Cela laisse supposer qu'en aval, les communautés microbiennes, bien que plus nombreuses et ayant un potentiel métabolique plus important, dégradent moins fortement les MPO dans cette zone en raison d'une activité plus faible, d'autant que les éthoxylés sont des molécules plus lourdes et complexes. Les apports étaient alors supérieurs aux pertes, cela conduit à leurs plus fortes concentrations en aval tandis que pour les MPO plus concentrés dans les eaux, les charges plus importantes en amont rendraient cet effet invisible (apports>pertes).

Cette modification avec le temps et l'espace était également visible au niveau de la **diversité génétique bactérienne et fongique**. La diversité alpha a eu tendance à augmenter, dès un an d'alimentation pour tous les substrats révélant une diversification des populations. Le nombre de taxon était plus important, mais le potentiel fonctionnel était plus faible, les deux paramètres étaient anti-corrélés sur l'ACP (Figure 3.30B) révélant une **redondance** des fonctions des communautés microbiennes dans les substrats. De plus, la diversité beta a révélé que le temps (donc l'alimentation) était le premier facteur de modification des communautés, suivi de la profondeur, où le sable de surface tendait à se rapprocher du sédiment avec le temps, surtout en amont. Ces résultats indiquent donc que les MES filtrées au travers de ce sable, surtout en amont, modifient progressivement ses propriétés physico-chimiques et la structure de ses communautés microbiennes, le rapprochant alors du sédiment.

Une matrice de corrélation (Figure 3.31) des phyla bactériens et fongiques selon les teneurs en micropolluants a été réalisée dans le sable de surface au T2 (n = 6) afin d'évaluer l'impact horizontal, donc l'impact de la contamination. Cela permet d'évaluer si les micropolluants ont impacté les communautés microbiennes au niveau des phyla bactériens et fongiques. Le sable profond n'a pas été inclus dans le traitement puisqu'il n'était pas localisé à la même profondeur, soit un autre facteur pouvant impacter la diversité microbienne. Seules 6 échantillons étaient alors disponibles, ce qui induit une robustesse des corrélations plus faible, donc moins significatives.

Concernant les bactéries (Figure 3.31A), une tendance à des corrélations **positives** supérieures à 0,6 était observée entre les Acidobacteria (coefficients entre 0,54 et 0,70), Others (coefficients entre 0,60 et 0,77), et Gammaproteobacteria (coefficients entre 0,60 et 0,77) et les micropolluants concentrés en amont (4-NP, 4-OP, BPA, HC, Zn, Pb, Cd, Cu). Cependant, les corrélations n'étaient pas significatives. Les Acidobactéria étaient en revanche significativement corrélées aux teneurs en NP2EO (coefficient de -0,90), plus concentrés au centre et aval. À l'inverse, les Gemmatimonadetes ont révélé des corrélations négatives (coefficients entre -0,77 et -0,89) avec les micropolluants localisés en amont, qui étaient significatives pour le 4-NP, indice HC et OP. Une corrélation positive était également trouvée pour le NP2EO. Enfin, les Betaproteobacteria étaient significativement corrélées avec le Ni seulement. Ces résultats révèlent donc un impact de la contamination qui stimulait les Acidobacteria et les phyla ayant une abondance relative inférieure à 1 %, mais qui inhibait le développement des Gemmatimonadetes. Les MPO étaient mieux corrélés avec les phyla bactériens que les ETM.

Concernant les champignons (Figure 3.31B), les Blastocladiomycota tendaient à être négativement corrélées avec les micropolluants localisés en amont (coefficients entre -0,70 et -0,87), seule la corrélation avec le 4-OP était significative. Les Chytridiomycota, Mortierellomycota et Glomeromycota tendaient également, plus faiblement à être moins abondantes en présence de micropolluants. À l'inverse, les Basidiomycota tendaient à être positivement corrélées avec les teneurs en micropolluants (coefficients entre 0,52 et 0,89), la corrélation était positive pour le Cr. Les autres phyla ne montraient pas de tendance particulière. La présence de micropolluants a donc stimulé les Basidiomycota uniquement, et a inhibé le développement des Blastocladiomycota surtout, mais également des Chytridiomycota, Mortierellomycota et Glomeromycota.

Ces phyla bactériens et fongiques dont le développement était favorisé par la présence de micropolluants pourraient donc jouer un rôle sur l'élimination des MPO. Ils indiquent une sélection de certains phyla liée à l'alimentation en eaux plus importante en amont.

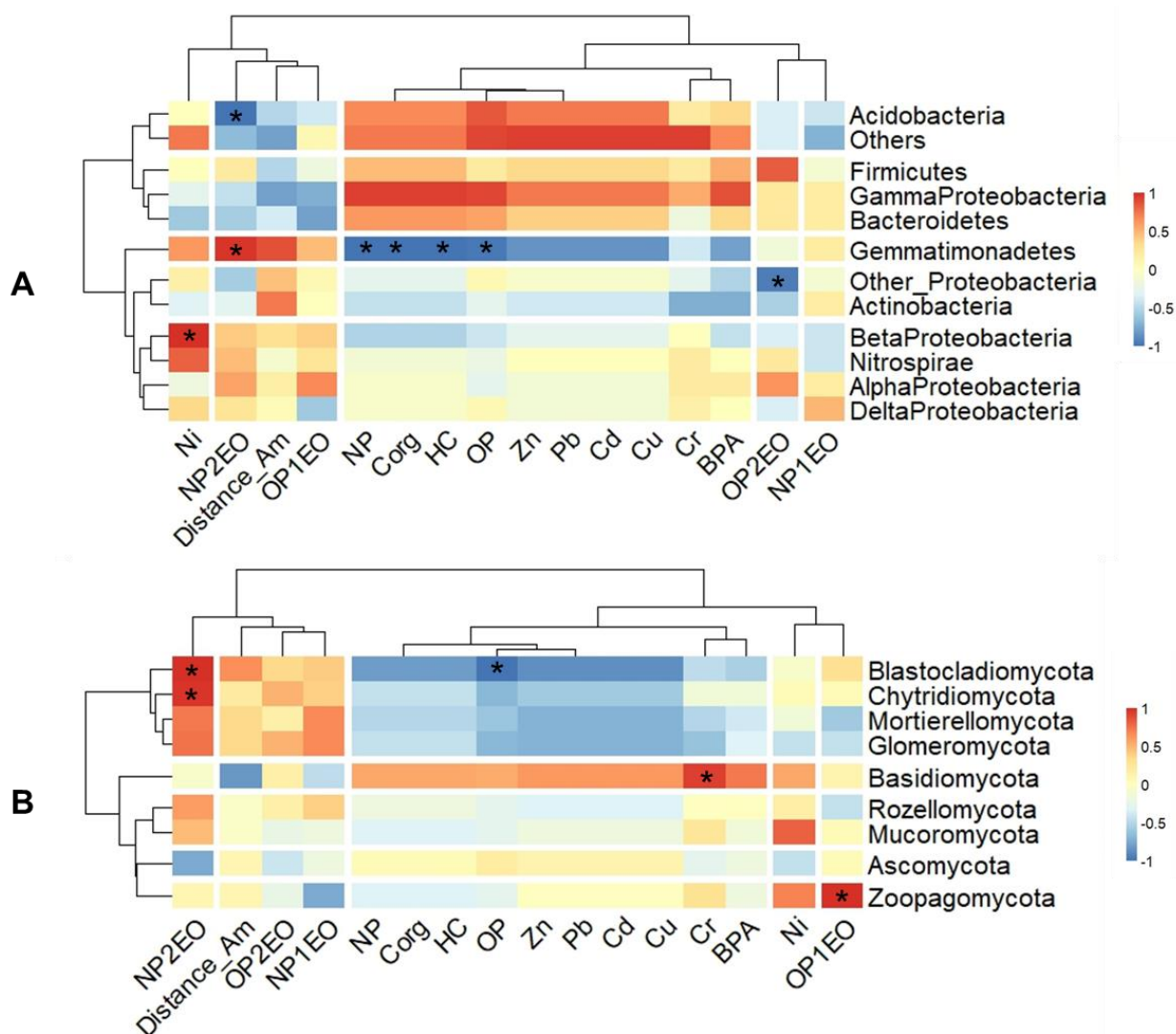


Figure 3.31 : Carte de chaleur des coefficients de corrélations de Spearman obtenues par la comparaison des phyla bactériens (A) ou fongiques (B) dominants et les teneurs en MPO et métalliques dans le sable de surface au T2. n = 6. Un * indique une significativité de la corrélation = p-val < 0,05.

XI.6. Conclusion du chapitre

Pour conclure sur ce chapitre, l'étude *in-situ* sur trois années a permis d'évaluer l'évolution des propriétés physico-chimiques des substrats composant les deux FPR, la dynamique d'accumulation de sédiment et de MPO et métalliques dans les substrats et la végétation ainsi que la dynamique de colonisation des communautés microbiennes dans les substrats.

Les résultats ont révélé une **hétérogénéité temporelle et spatiale** (horizontale et verticale) des FPR, attribuable à une charge hétérogène d'eaux contaminées, plus importante en amont. Le sédiment s'accumulait alors principalement en amont. Les propriétés physico-chimiques du sable de surface étaient les plus impactées par les eaux, les MES s'accumulant entre les pores majoritairement en amont favorisaient la rétention de carbone organique, azote et augmentaient sa CEC. Le Rc, localisé plus en profondeur a moins évolué dans l'espace, mais un enrichissement en carbonates, CEC et azote était

révélé. Enfin, le sédiment, matériau exogène était celui présentant des propriétés physico-chimiques les plus distinctes, en étant plus riche en carbone organique, en azote et en limon. L'évolution de ses propriétés physico-chimiques était attribuable aux variations de compositions des MES lors d'évènements pluvieux.

L'accumulation de sédiments et de micropolluants particulaires et hydrophobes (Cd, Cu, Pb, Zn, 4-NP, hydrocarbures aromatiques polycycliques et indices hydrocarbures) était favorisée principalement en surface et en amont des FPR. Les processus de sédimentation et de filtration dominaient alors pour ces micropolluants. Les ETM plus mobiles et certainement dissous (Ni, Cr) étaient surtout accumulés en aval et en profondeur. Ils auraient été plus fortement remobilisés en amont par les eaux claires circulant à des volumes importants dans les FPR, donc le stock apparait comme plus important en aval. Enfin, la zone centrale présentait une accumulation annuelle plus faible qu'en aval, ce qui est contraire aux observations d'autres auteurs, mais pouvant être relié à l'influence plus importante des eaux claires au centre qu'en aval. Le classement des teneurs en ETM était similaire à ceux reportés dans d'autres études et était lié aux concentrations dans les eaux de ruissellement. C'était le cas également pour les HAP et MPO, sauf le NP1EO qui était moins concentrés dans le sédiment et sable de la présente étude. En termes d'ordres de grandeur, le Cu (et plus faiblement Cd et Ni) étaient plus concentrés dans les sédiments par rapports à la littérature, et dans le sable de surface, le Zn et Pb étaient moins concentrés par rapport à la littérature, pouvant être relié à des concentrations différentes dans les eaux de ruissellement entre les études. Le sable profond a très faiblement accumulé des micropolluants avec le temps, sauf le Ni puis le Cr, ce qui est cohérent avec la littérature.

En deux ans de fonctionnement, l'accumulation annuelle des ETM était positive sur l'ensemble des deux FPR, le Cd étant le moins accumulé et le Zn le plus accumulé, ce qui est cohérent avec les concentrations dans les eaux de ruissellement en Ile-de-France reportées par d'autres auteurs. Le sédiment (teneurs variables mais un volume croissant dans le temps) suivi du sable de surface en amont accumulaient le plus d'ETM particulaires, et le sédiment suivi du Rc accumulaient plus d'ETM plus mobiles. Les MPO présentaient une accumulation plus faible, un bilan négatif sur deux ans a été révélé, excepté pour le 4-NP, suggérant des processus de dégradation microbienne. L'accumulation du 4-NP était la seule nette, elle représentait plusieurs dizaines de mg/g/an contrairement aux autres MPO, donc l'accumulation était plutôt de l'ordre de l'unité de mg/g/an. Le 4-NP étant le plus concentré dans les eaux de ruissellement en Ile-de-France, ils indiquent un risque d'accumulation pour ce MPO émergent uniquement. La remobilisation des MPO par les eaux claires était moins nette. Le sédiment semblait accumuler uniquement les MPO, lié à ses forts taux de carbone organique (interactions hydrophobes), mais les ETM tendaient à diminuer avec le temps indiquant une mobilité plus importante lié aux eaux claires par rapport aux MPO.

Le Rainclean n'a pas démontré une efficacité significative dans l'accumulation des micropolluants à l'échelle des FPR en deux ans, plus de temps semble nécessaire pour conclure sur son efficacité. A une échelle plus locale, il semblait participer à l'accumulation de tous les ETM en aval surtout, puis en amont suggérant que les eaux claires impactaient également la mobilisation des ETM en amont. Le 4-NP restait plus accumulé en amont avec une diminution vers l'aval.

Le faucardage de la végétation a un faible impact sur l'exportation des micropolluants, avec une plus grande absorption relative des MPO par rapport aux ETM. Ces données confirment les observations du rôle mineur des roseaux dans l'élimination de la contamination dans des FPR pour le traitement des eaux de ruissellement.

Les apports hétérogènes ont influencé le développement des communautés microbiennes, surtout dans le sable de surface. En amont, les communautés étaient moins nombreuses ou similaires à l'aval et présentaient un potentiel fonctionnel et une diversité génétique réduits ; elles étaient cependant métaboliquement plus actives, liées aux concentrations plus élevées de micropolluants, carbone organique et azote. Ces résultats indiquent une **spécialisation** des communautés microbiennes au fil du temps, en corrélation avec les apports d'eaux de ruissellement. La nature différente des substrats impactait également les communautés microbiennes, le sédiment se distinguait comme le solide le plus différencié en termes de communautés et d'activités microbiennes, étant

exogène aux FPR. La filtration des matières en suspension par le sable de surface a ainsi modifié la structure et l'activité des communautés, les rapprochant progressivement de celles du sédiment avec le temps (diversité bêta microbienne). Le Rc, initialement très pauvre en microorganismes et peu actif a montré une colonisation forte en termes de biomasse, mais pas en termes d'activité, excepté pour la déshydrogénase. Enfin, l'activité microbienne était concentrée dans les premiers cm des FPR (sédiment et sable de surface) et en amont, indiquant que ce volume des FPR jouerait un rôle plus important sur les processus d'élimination des MPO. Le sable profond a faiblement été colonisé, peu importe le temps ou la localisation. Les activités enzymatiques semblaient ainsi plus sensibles aux variations horizontales et verticales dans le sable de surface et les conclusions sur les dynamiques observées étaient proches de celles lors de traitement des eaux usées, avec l'activité microbienne la plus importante en amont et en surface.

Ces résultats confirment donc une colonisation microbienne avec le temps par des apports répétés d'eau de ruissellement dont les abondances et activités métaboliques du sable de surface essentiellement étaient impactées par la localisation horizontale et verticale en raison de l'hétérogénéité des apports dans les FPR. Le potentiel fonctionnel tend à augmenter depuis T1, indiquant une acclimatation des communautés.

Des différences ont été observées entre les substrats des deux FPR en termes de teneurs en micropolluants et de communautés microbiennes au T2. Notamment un sédiment microbiologiquement plus actif dans FS mais un sable de surface moins actif que FR. Cependant, à ce niveau d'étude, il n'est pas possible de conclure sur ces différences puisque des facteurs extérieurs peuvent influencer ces résultats : volume d'eau infiltré différent, qualité de l'eau encore inconnue à ce jour, un mois séparait ces deux campagnes donc les conditions météorologiques étaient différentes et des différences de biomasse végétale étaient constatées entre les deux FPR (résultats non présentés dans ce manuscrit).

Cette étude *in-situ* a donc révélé que la dynamique des MPO était différente de celle des ETM, avec une élimination de tous les MPO sauf le 4-NP en deux ans d'alimentation. La remobilisation des MPO par les eaux claires étant moins nette que pour les MPO, leur élimination par **biodégradation** microbienne semble être le processus dominant. Le sédiment, solide le plus contaminé et biologiquement très actif a révélé des communautés microbiennes adaptées à cette contamination, qui joueraient donc un rôle sur la biodégradation des MPO dans cette couche. Le sable de surface et le Rc ont montré des pertes en MPO, indiquant que contrairement au sédiment (donc la contamination est plus importante), les pertes étaient plus importantes que les apports. Le chapitre suivant s'intéressera donc à l'étude de la biodégradation de MPO ciblés au laboratoire par les communautés microbiennes du sédiment, sable de surface et Rc. Le sable profond n'ayant pas montré d'évolution importante de contamination et de communautés microbiennes, il n'a pas été inclus dans l'étude. Ce chapitre permettra de valider les hypothèses émises après l'observation de l'appauvrissement des FPR en MPO.

XII - Evaluation de la biodégradation de micropolluants organiques émergents au laboratoire : essais de biodégradation en colonnes

Le Chapitre XI a révélé la **rétenion** de micropolluants dans le massif filtrant des FPR, dont des MPO émergents tels que les alkylphénols (4-nonylphénol 4-NP et 4-t-octylphénol 4-OP) et le bisphénol-A (BPA). Les teneurs étaient de l'ordre du $\mu\text{g}/\text{kg}$ à la centaine de $\mu\text{g}/\text{kg}$ dans le sable de surface et RC tandis qu'ils ont atteint le mg/kg dans le sédiment, plus contaminé. Une accumulation de ces MPO a donc été observée avec le temps et l'alimentation en eau du filtre, cependant, les zones centre et aval et les couches profondes étaient moins contaminées voir à des teneurs inférieures à la LQ et inférieures à celles mesurées au T0. Cela indiquerait que les apports étaient plus importants que les pertes en amont, et que les pertes s'équilibraient avec les apports dans les autres zones. Un des mécanismes conduisant à la perte des MPO est leur **biodégradation** par les communautés microbiennes des substrats. Ce processus destructif, discuté dans le chapitre III, a déjà été étudié dans la littérature, cependant, les contextes étaient très différents de la présente étude. Les études antérieures s'intéressaient le plus souvent à des sols agricoles initialement non destinés à recevoir ces MPO. De plus, le manque de connaissance sur le devenir des MPO une fois retenus dans un FPR étant avéré, étudier le rôle des communautés microbiennes dans leur dégradation est devenu une nécessité.

Dans cette partie, les résultats de l'étude au laboratoire des cinétiques de biodégradation du BPA, 4-NP et 4-OP sont présentées sous la forme d'un article, dont la soumission est prévue pour début 2024. La biodégradation de ces trois MPO a été réalisée dans des colonnes remplies d'un volume fixe de substrat du filtre FR (sable, RC et sédiment), stérile ou non (afin d'évaluer la part de dégradation biotique) et planté ou non de *P. australis* (afin d'évaluer l'impact de la végétation sur les cinétiques de biodégradation).

L'**objectif** principal était de comprendre le **rôle** des bactéries, des substrats et de la végétation sur ce processus et d'obtenir les **constantes** des cinétiques de biodégradation afin d'alimenter le modèle développé dans le projet. Cela permettra de répondre aux **questions** suivantes :

- Quelles sont les cinétiques de biodégradation des MPO ciblés ? A quelles vitesses sont-ils dégradés ? Y-a-t-il une différence de dégradation selon le substrat ?
- La présence de MPO impacte-elle la structure et l'activité des communautés microbiennes ? Quels sont les rôles de la végétation implantée dans les FPR et des différents substrats sur la sélection de communautés microbiennes et sur la dégradation des MPO ?

The role of reed bed filter microorganisms and vegetation in the (bio)degradation of road runoff organic micropollutants

J. Roux^{(1)*}, M. Seidl⁽²⁾, N. Chibane⁽¹⁾, L. Boudahmane⁽¹⁾, V. Alfonse⁽¹⁾, M. Barakat⁽³⁾, W. Achouak⁽³⁾, E. Caupos⁽¹⁾, A. Livet⁽¹⁾, P. Neveu⁽⁴⁾ and N. Bousserhine⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Laboratoire Eau Environnement et Systèmes Urbains (LEESU), 61 avenue du Général de Gaulle, 94010 - Créteil Cedex, France.

⁽²⁾ LEESU, 6-8 avenue Blaise Pascal, Cité Descartes, Champs sur Marne, 77 455 Marne-La-Vallée Cedex 2, France.

⁽³⁾ CNRS équipe LEMIRE, CEA Cadarache, Zone Cité des Énergies, 13115 St Paul lez Durance, France.

⁽⁴⁾ Direction de la Propreté et de l'Eau (DPE) Ville de Paris, 103 avenue de France, 75013 Paris, France.

* Corresponding author.

Résumé

Afin de limiter l'impact des eaux de ruissellement contaminées sur la Seine, la municipalité de Paris (France) a mis en place un filtre planté de roseaux (FPR) innovant pour le traitement des eaux de ruissellement. Il est séparé en deux parties avec l'une composée uniquement de sable et l'autre composée de sable et d'un substrat adsorbant commercial appelé Rainclean (RC) pour améliorer la rétention des polluants dissous. Les principaux objectifs du projet sont de surveiller l'évolution de l'efficacité du FPR et de comprendre le devenir des contaminants dans les FPR, ce qui nécessite l'étude de leur dégradation. Ainsi, cet article présente les résultats d'essais de biodégradation de trois micropolluants organiques émergents (MPO), le bisphénol-A (BPA) et deux alkylphénols, le 4-nonylphénol et le 4-t-octylphénol (4-NP, 4-OP) dans des colonnes plantées (*Phragmites australis*) et non plantées simulant le fonctionnement du FPR. L'importance du sable, du RC et des sédiments (en surface du filtre) est étudiée séparément. Une attention particulière a été accordée au rôle des communautés bactériennes autochtones des substrats et à la modélisation de la cinétique. Les résultats ont révélé que l'activité microbienne des différents substrats étaient le principal facteur de dégradation de tous les MPO, puisque 68,0 à 92,5 % du pourcentage total de dégradation était dû à la dégradation biotique. Avec des temps de demi-vie du BPA (DT50) compris entre 2,34 et 4,06 jours (j) pour le sable et le RC et 21,7 j dans les sédiments, comparées à 2,55-15,63 j et 4,83-13,63 j pour le 4-NP et le 4-OP respectivement dans tous les substrats, le BPA était le composé le plus rapidement dégradé, à l'exception des sédiments. La présence de *P. australis* a joué un rôle dans la biodégradation en augmentant le pourcentage final de dégradation pour les deux substrats (exemple du BPA : 3,9 % contre 0,4 % restant dans le sable et 14,2 % contre 1 % restant dans le RC, en conditions non plantées et plantées respectivement) et en diminuant les DT50 dans le sable uniquement (exemple du 4-NP : 4,35 j contre 15,63 j en conditions plantées et non plantées respectivement). Les différences physico-chimiques entre les trois substrats ont conduit à des communautés et activités microbiennes distinctes (activité enzymatique, potentiel fonctionnel et diversité génétique bactérienne), en particulier dans le sédiment. Les communautés microbiennes ont toutes été capables de significativement dégrader chaque MPO avec une faible modification de leur structure. La présence de *P. australis* a plus fortement impacté les communautés bactériennes. Nos résultats indiquent un faible risque d'accumulation des MPO dans les FPR pour le traitement des eaux de ruissellement urbain en raison de leur rapide dégradation. Cependant, les sédiments et le RC non plantés ont révélé des teneurs résiduelles en MPO élevées en raison de leurs propriétés adsorbantes. Un risque d'accumulation à long terme des MPO existe ainsi dans ces deux substrats, ce qui nécessite une surveillance continue des teneurs au fil du temps.

Mots-clés : Biodégradation, micropolluants organiques, Filtres plantés de roseaux, *Phragmites australis*, communautés bactériennes.

Abstract

To limit the impact of contaminated road runoff on the Seine River, the Paris municipality (France) has set up an innovative reed bed filter (RBF) for runoff treatment. The RBF is separated in two parts with a slightly different substrate composition, one only with sand and the other one with sand and a commercial adsorbent named Rainclean (RC) to improve the retention of the dissolved pollutants. The main objectives of the project are to monitor the evolution of the RBF efficiency and understand the fate of contaminants within RBF, which requires the study of their degradation. Thus, this paper present results of biodegradation trials of three emerging organic micropollutants (OMP), bisphenol-A (BPA), and two alkylphenols, 4-nonylphenol and 4-t-octylphenol (4-NP, 4-OP) in planted (*Phragmites australis*) and unplanted columns simulating the functioning of the RBF. Importance of sand, RC and sediment (top of the filter) are studied separately. Specific attention was paid to the role of autochthonous bacterial communities of substrates and to the proper modeling of kinetics. Results revealed that microorganisms' activities were the major degradation factor of all OMP and substrates, as 68.0 to 92.5 % of total percentage degradation (all kinetics considered) was due to biotic degradation. With BPA half-lives (DT50) between 2.34-4.06 days (d) for sand and RC and 21.7 d in sediment, compared to 2.55-15.63 d and 4.83-13.63 d for 4-NP and 4-OP respectively in all substrates, BPA was the most rapidly degraded compound except for sediment. *P. australis* played a role in biodegradation by increasing the percentage of total degradation for both substrates (example of BPA: 3.9 % versus 0.4 % remained in the sand and

14.2% versus 1% remained in RC, in unplanted and planted conditions respectively) and by decreasing the DT50 in sand only (example of 4-NP: 4.35 d versus 15.63 d in planted and unplanted conditions respectively). Physicochemical differences between the three substrates resulted in the presence of distinct microbial communities (enzymatic activity, functional diversity, and bacterial genetic diversity) in each substrate, particularly in the sediment. However, they were all able to significantly degrade each MPO, inducing few changes in their structure, indicating their acclimatization to these compounds. The presence of *P. australis* had a greater impact on bacterial communities. These results are crucial because they indicate a low risk of OMP accumulation in RBF due to their rapid degradation. However, sediment and unplanted RC showed high residual OMP levels due to their adsorbent properties. Therefore, there is a risk of long-term accumulation of OMP in these two substrates, requiring the monitoring of contents over time.

Keywords: *Biodegradation, organic micropollutants, Reed bed filters, Phragmites australis, bacterial communities*

XII.1. Introduction

It is now known that urban development has impacts on stormwater. Cities are characterized by numerous impervious surfaces such as roofs, roads, and parking lots, which prevent rainwater from infiltrating into the soil (Miller et al., 2014). These impervious surfaces are identified as non-negligible sources of pollutants (Gromaire et al., 1999; Gromaire et al., 2013; Revitt et al., 2014; Markiewicz et al., 2017). Indeed, the leaching of these urban surfaces by stormwater carries away many pollutants, such as waste, suspended solids, oxidizable/biodegradable organic matter, nutrients, metallic and organic pollutants, and microorganisms (Barbosa et al., 2012). Among these pollutants, metallic and organic micropollutants are particularly toxic: trace metals (Pb, Zn, Cu, Cd, Cr, Ni), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and more recently alkylphenols (AP), phthalates (PAE) and bisphenol A (BPA) (Soares et al., 2008 ; Tchounwou et al., 2012 ; Patel et al., 2020 ; Xing et al., 2022). The latter are emerging Organic MicroPollutants (OMP) of concern because of their persistence and their potential to cause adverse health and environmental effects, even at low concentrations. In road context, many OMP, like BPA and two AP, 4-nonylphenol (4-NP) and 4-t-octylphenol (4-OP), are emitted by vehicles (bodywork, paint, tires, brake pads, and liquid consumables), traffic-related activities (exhaust fumes, road surface coating materials and equipment), and by atmospheric deposition (Markiewicz et al., 2017; Revitt et al., 2014). Thus, these waters contribute to the degradation of the receiving aquatic environment if they are discharged without treatment (Peters, 2009; Walsh et al., 2012). The European Water Framework Directive has given objectives to improve the quality of Europe's water bodies by 2027, in terms of chemical, physical and biological status (CE, 2000). Thus, the reinforcement of stormwater management is crucial to meet these objectives of environmental protection and public health.

For this purpose, different stormwater treatment systems have been developed combining physical, biological and chemical processes to treat water (Fletcher et al., 2015). They are generally extensive techniques placed as close as possible to the stormwater runoff area (Molle et al., 2013). Among these techniques, Reed Bed Filters (RBF), structures from the family of constructed wetlands are a technique increasingly used for stormwater management (Malaviya and Singh, 2012). It consists of an excavation that is sealed and then filled with overlapping layers of filter material (substrates) that increases in particle size with depth, on which macrophytes are planted on the surface (typically *Phragmites australis*), and in which native fauna may develop (Kadlec and Wallace, 2009; Molle et al., 2013). This allows the combined functions of infiltration, storage, retention and degradation of contaminants contained in runoff. The flow of stormwater through the system can be vertical or horizontal and is referred to as a vertical or horizontal flow RBF (Vymazal et al., 2006).

Several retention mechanisms for pollutants exist in these RBF, whether they are physical, chemical, or biological. These mechanisms will mainly depend on the particulate/dissolved distribution of the compound. Particulate pollutants will be easily filtered out by the filter substrates as water percolates through. This results in the formation of a sediment layer on the surface of the RBF and an enrichment of these particles in the first centimeters of the substrate (Kania et al., 2019). Concerning dissolved

pollutants, sorption processes on substrate and deposited sediments will dominate (Zhang et al., 2012). However, dissolved pollution is generally less retained in these systems (LeFevre et al., 2014; Flanagan et al., 2019a), but their treatment efficiencies have still been demonstrated (Vymazal, 2014; Hsieh et al., 2015; Schmitt et al., 2015; Walaszek et al., 2018; Tondera et al., 2019) proving their role in decreasing the flows of water and pollutants (organic and metallic) in the receiving environments. Concerning organic pollutants, their destructive nature leads to degradation mechanisms with the main one being biodegradation by RBF autochthonous microorganisms. Despite their increasing use, the ability of RBF for runoff management to remove OMP by biodegradation is still poorly understood.

In soils, biodegradation of BPA, 4-NP and 4-OP was studied and several authors revealed that their degradation was possible and fast (Ying and Kookana 2005; Hseu, 2006; Shibata et al., 2006; Chang et al., 2007; Sjöström et al., 2008; Brown et al., 2009; Toyama et al., 2009; Xu et al., 2009; Langdon et al., 2011; Toyama et al., 2011; Li et al., 2013; Tran et al., 2015; A et al., 2017; Kuzikova et al., 2019). Summarizing the data available in the literature, DT50 values of BPA degradation range from 0.81 to 8.7 days with an average at 4.6 days (Ying and Kookana, 2005; Xu et al., 2009; Langdon et al., 2011; Li et al., 2013), DT50 values of 4-NP range from 4.6 to 25 days with an average at 12.3 days (Ying and Kookana, 2005; Hseu, 2006; Chang et al., 2007b; Sjöström et al., 2008; Brown et al., 2009; Langdon et al., 2011; Li et al., 2013; Kuzikova et al., 2019) and DT50 values of 4-OP range from 5 to 19.3 days with an average of 11.2 days (Ying and Kookana, 2005; Shibata et al., 2006; Langdon et al., 2011). Thus, the BPA degradation is generally faster than 4-NP and 4-OP. The use of first order kinetics to evaluate biodegradation kinetics is often preferred. However, some authors have reported a better explanation of the data using biphasic kinetics, considering a rapid phase of OMP degradation followed by a slow or no degradation phase (Sjöström et al., 2008; Langdon et al., 2011). The equation used to model degradation kinetics is therefore decisive (Boesten et al., 2014). Several bacterial genera are recognized for their ability to degrade OMP, known as OMP-degrading bacteria. For example, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Sphingomonas*, *Arthrobacter* or *Sphingobium* are bacterial genera known for their role in the degradation of both alkylphenols and BPA (Soares et al., 2003; Liu et al., 2008; Matsumura et al., 2009; Watanabe et al., 2012; Wang et al., 2015b; Im and Löffler, 2016; Zhang et al., 2016b; Ma et al., 2016; Oh and Choi, 2019; Shi et al., 2022; Tian et al., 2022).

Moreover, it has been shown that the presence of plants favors the biodegradation of OMP (Toyama et al., 2009; Sun et al., 2010; Toyama et al., 2011; Chen et al., 2015; Leroy et al., 2015; A et al., 2017; Wu et al., 2019) thanks to the rhizospheric effect (better oxygenation, organic exudates released from plant roots for example) (Oberai and Khanna, 2018; Gupta et al., 2020). Degradation rates and total degradation percentages were generally faster in planted condition. However, to our knowledge, no article has studied their degradation in stormwater RBF, and the systems set up are rarely representative of reality (small soil mass, no soil structure, contamination through addition of solvents, optimal temperatures, high pollutant contents) which can lead to an overestimation of the biodegradation. Finally, most of the studies used agricultural soil for the experiments (and to a lesser extent sewage sludge or sediment from rivers) that have never received this type of contamination, contrary to FPR which are supplied with contaminated water at every rainfall event.

This study is a part of the European Life Adsorb project, where an innovative vertical flow RBF has been set up in Paris outskirts to treat part of the runoff of the city ring highway. The aims of this study were (1) to determine the biodegradation kinetics of selected OMP contained in the urban runoff: BPA, and two AP, 4-NP and 4-OP and (2) to evaluate the role(s) of bacterial communities and vegetation in the biodegradation process. The research questions are therefore to know the type of degradation kinetics of specific OMP (in conditions as close as possible to those of study site) and to identify which role(s) do substrates/sediment, plants and microorganisms play in the degradation processes. The approach of substrates and sediment in planted and unplanted columns in a OMP biodegradation kinetics study, combined with bacterial diversity evaluation was to our knowledge never proposed in the literature and should be considered as an innovation in runoff biodegradation essays. The authors hope that the results will contribute to a better understanding of the role of RBF in stormwater management and will help to improve the design and effectiveness of these structures for the reduction of organic pollutants in urban runoff.

XII.2. Materials and methods

The principle of biodegradation experiments consists of follow up of BPA, 4-OP and 4-NP content in planted and unplanted columns containing spiked reed bed filter substrate. The set-up was based on previous laboratory experience with contaminated soils (Seidl *et al.*, 2021) and the biodegradation studies in columns like Bertelkamp *et al.* (2015). As global guidance for soil biodegradation testing in soil, the ISO 11266 standard (ISO, 1994) was used.

XII.2.1. Study site and substrates sampling

The Reed Bed Filter (RBF), located in the Bois de Boulogne Park in the West Paris (France, 48°52'28.6"N 2°15'43.6"E) is subdivided into two bean form parts of approximately 600 m² each. Their structure is similar; from top to bottom we can find a filtering layer (40 cm), then a transition layer (10 cm) and finally a submerged drainage layer (50 cm). The difference between these two parts is the composition of the filtration layer. In the conventional RBF (RBF-S), this layer is composed of 40 cm sand while in the innovative one (RBF-R), a layer of 20 cm of a commercial adsorbent substrate, the Rainclean® (RC) is inserted between two layers of 10 cm of sand (supplementary Figure 3.41). Its commercial composition isn't known, but RC contains mainly carbonates, coconut fibers, pumice stones and charcoal. The RBF are planted with common reed (*Phragmites australis*). Since February 2021, the filters are fed by pumps from groundwater and runoff storage, alternately one month each. During heavy rainy periods, in full operation the filters work simultaneously with a downward vertical flow up to 20 L/s.

For the experimentation, representative substrate samples were taken in April 2022 in the center of the RBF-R of surface sediment (brought over time), sand and RC. The samples were air-dried (25°C) for 2 weeks. A slight decompaction was applied to the sediments to separate the aggregates. No sieving was carried out but roots and plant residues were removed before use. The dried samples were kept at room temperature in closed containers away from any contact with light until column set-up.

To characterize the substrates, physicochemical properties have been measured: pH (NF ISO 10 390), total organic carbon (TOC, catalytic combustion at high temperature, 960°C), total nitrogen (TN, NF ISO 13 878), cation exchange capacity (CEC, NFX 31-130) and particle size (NF ISO 13320-1). The BPA, 4-OP and 4-NP contents were quantified to determine the initial levels of these OMP in the substrates (see section XII.2.4).

XII.2.2. Experimental procedures

The aerobic biodegradation experiments were conducted in triplicate (for a given condition, substrate and time step) in stainless-steel columns (12 cm high, 7 cm diameter), closed at the bottom by a 100 µm stainless-steel mesh and filled up with 10 cm of sand or RC, issued from the RBF-R (Figure 3.32). To also evaluate the degradation in the accumulated sediments, unplanted columns with 5 cm sediment were included. The columns were filled with previously treated samples and care was taken to maintain the same density in the columns as in the field. All materials used for manipulation are acetone-rinsed or oven cleaned (2 hours at 550 °C).

Two conditions of OMP exposition were used, planted and unplanted substrates. To correct for abiotic degradation, unplanted sterile substrate control was set up under sterile conditions for the three types of substrates. Control samples were sterilized just before the OMP exposition by triple autoclave cycles of 121°C during 30 min with 24h rest between each, and then maintain sealed. To correct for the eventual natural evolution of the microbial communities, unpolluted controls for all substrates were included. For the planted condition, young common reed (*P. australis*) of 15 cm high, provided by the company Santonine, was used. The initial plant soil was removed, the plant roots were washed, rinsed with demineralized water, gently dried and then the young reeds were planted in the center of the columns containing sand or RC. Each reed plant consisted of several stems.

All columns, except abiotic one, were then pre-incubated for 2 weeks to acclimatize plants and microorganisms to the new conditions. The preincubation was done in a growth chamber with climate conditions close to that of the field (KBWF 720, Binder) with 16h of light at 20°C and 8h in the dark at 15°C and 60% of constant humidity. The columns were placed randomly in the growth chamber. All

columns were watered every two days to compensate evapotranspiration (no water percolation). The composition of water used for irrigation was sterilized Volvic mineral water with composition close to that of rainwater (12mg/L Ca²⁺, 8mg/L Mg²⁺, 12mg/L Na⁺, 6mg/L K⁺, 9mg/L SO₄²⁻, 74mg/L HCO₃³⁻, 7.3mg/L NO₃⁻, 15mg/L Cl⁻, 32mg/L SiO₂, pH 7).

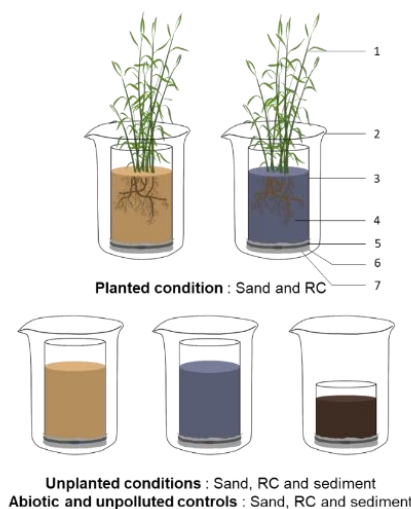


Figure 3.32 : The different columns setup for the experiment. 1: *P. australis* (planted conditions); 2: Glass beaker (1 L); 3: Stainless-steel columns (12*7.2 cm or 7*7.2 cm); 4: Substrate: sand, RC or sediment – sterile or not; 5: Stainless steel clamp; 6: Stainless-steel mesh (75 µm); 7: Sterile aluminum structure (invisible, to elevate columns).

At the end of pre-incubation, each filled column was artificially contaminated with BPA, 4-NP and 4-OP (except unpolluted control) by immersing it gently in a 1 L beaker containing 10 cm Volvic water enriched with 4-NP (3.5 mg/L), 4-OP (1 mg/L) and BPA (2.57 mg/L). The OMP proportions are based on that found on average in runoff in Paris (Gasperi *et al.*, 2022), but their liquid concentration is increased to be above the detection limits in the substrates at the end of the experiment. After 4 hours, the columns were drained during 1 h to remove the gravity water. Finally, the columns were incubated in the climate chamber under the same conditions as the pre-incubation. At each defined time step (0; 1; 4; 7; 14; 30 days), a triplicate of whole columns was collected and the substrate of each column was then homogenized before separating for different analysis. Thus, the initial time (T₀) corresponds to 5 h of exposure to OMP. The contribution of vegetation is found as the difference between the planted and the unplanted columns. The contribution of microorganisms is calculated as the difference between the unplanted columns and the abiotic control.

To validate the setup and to determine the appropriate test duration, single preliminary test were conducted with unplanted sand and RC and compared to batch essays with 1:2 substrate : liquid mass ration using EPA OPPTS 835.3180 standard (Ranchoux, 2021).

XII.2.3. Chemicals and reagents

The OMP to test, Bisphenol A (BPA: 4-[2-(4-hydroxyphenyl)propan-2-yl]phenol, CAS 80-05-7) and 4-Nonylphenol (4-NP: 4-(7-methyloctyl)phenol, CAS 84852-15-3) were purchased from Sigma-Aldrich with analytical grade and >99% and >90% purity respectively. The 4-tert-Octylphenol (4-OP: 4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenol, CAS 140-66-9) was purchased from Cil Cluzeau in analytical grade with purity >98%. The chemical structure and physicochemical properties of these compounds are shown in supplementary Table 3.29. The injection standards 4-nNP, BPA-d16, nNP2EC and nNP1EO were purchased from LGC (>99% purity). The extraction standards BPA-d6, NP1EO-d2 and OP-d17 were purchased from CIL, Sigma Aldrich and CDN respectively (>99% purity).

Stock solutions of OMP were prepared at concentration of 2 g/L in methanol and kept in dark at 4°C. Organic solvents used, acetone, dichloromethane (DCM) and ethyl acetate (EtAce), were purchased from Supelco-Sigma Aldrich and methanol (MeOH) from Fisher Chemical, all analytical grade (≥ 99.9%

purity). The ultrapure water (UP-H₂O, IQ 7000, Merck) used was characterized by 18.2 MΩ.cm and 2.1 ppb TOC.

XII.2.4. Analysis of BPA, 4-OP and 4-NP

To quantify OMP retention in the substrates their concentrations were determined in the spiked water before and after soaking. To estimate the biodegradation kinetics, the OMP contents were analyzed in representative substrates samples at each time steps. Evaporation and plant uptake of OMP were not evaluated because they were estimated to be negligible for these compounds (Soares *et al.*, 2008).

Before analysis, the column substrates were frozen (-18°C), freeze-dried (Alpha 1-2 LD Plus, CHRIST) and finally grinded at a planetary agate ball mill (PM100, Retsch) to obtain a fine powder. Then, 500 mg of homogenized substrate powder was used to extract the OMP by a solvent/microwave method. The microwave extraction was performed by adding 20 mL of a solvent mixture (MeOH/ DCM 60/40 v/v) and 25 µL of deuterated extraction standards solution to the samples in Teflon tubes. The tubes are heated by microwaves (Multiwave 3000, Anton Paar) at 140°C, 7 bars at 800 W for 5 min and at 300 W 10 minutes. After cooling, the extracts are filtered with a pre-cleaned paper filter (5-8 µm pore size, VWR) to remove particles. Finally, the sample volume is reduced at rotary evaporator (Rotavapor R-114 and Vacuum controller V-850, Butchi) to approximately 2 mL. Rotavapor flasks are rinsed with 2 mL of MeOH, and the clean extracts are recovered. The samples are then transferred to glass vials and evaporated to dryness under nitrogen flow (Visiprep DL, Supelco). The samples are transferred with 500 µL of MeOH/UP-H₂O 50/50 (v/v) to SPE OASIS® HLB cartridges (200 mg / 6 mL, Waters) for purification. The cartridges are first conditioned with 3 mL of MeOH plus 3 mL of 80/20 (v/v) UP-H₂O/MeOH mixture and 3 mL of UP-H₂O (IQ 7000 Merck) and dried for 30 minutes. The sample contained in cartridges are eluted with 9 mL of a MeOH/DCM/EtAce 40/40/20 (v/v/v) mixture. 50 µL of injection standards are added to each sample eluent and evaporate until dryness. The samples are finally recovered in 1 mL of mobile phase mixture A1/B1 50/50 v/v with A1: UP-H₂O with 0.05 % NH₄OH and B1: MeOH with 0.05% NH₄OH. In the case of liquid samples (water), only 50 µL of the same injection standard solution is added to 950 µL of filtered (0.2µm) sample before analysis.

Analysis of BPA, 4-NP and 4-OP was performed by Ultra Performance Liquid Chromatography (ACQUITY UPLC, Waters) coupled to a tandem mass spectrometer (MS-MS) (ACQUITY TQD, Waters). Compounds were eluted using an Acquity UPLC BEH C18 column (100 mm * 2.1 mm * 1.7 µm) during an 8-minute gradient. Acquisition was carried out through electrospray ionization, detection and quantification of compound were carried out using 2 MS-MS transitions for each molecule (supplementary Table 3.30).

Extraction blanks were prepared and analyzed (supplementary Table 3.30) using the same protocol to evaluate any contamination during the extraction procedure. For the calculation of OMP contents in substrates or solutions, the extraction efficiency of the extraction standards as well as the peak area of the injection standards were considered. The contents were calculated from internally standardized twelve points calibration curves using the ratio of OMP and injection standard peak area and corrected for extraction efficiency. The final sample values were obtained after subtraction of the average of all extraction blanks.

XII.2.5. Microbial and biochemical analysis

XII.2.5.1. Substrates microbial functional diversity

Carbon source utilization profiles of microorganisms in the column were evaluated at each sampling time using specific microplates. To evaluate the soil microbial functional diversity according to *Weber and Legge, (2010) and Garland and Mills (1991)*, Biolog EcoPlates™ (Biolog Inc., CA, USA) were used. Microbial cell suspensions were prepared by agitating 4 g of substrates in 36 mL of sterile NaCl (9 g.L⁻¹) for 1 hour at 40 rpm. To eliminate soil particles the suspension was centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes. 150 µL of a 100-fold dilution of the supernatant was added into each well of Ecoplate. The plates were incubated at 25°C and the absorbance at 595 nm was measured by a Multiskan FC plate spectrometer (Thermoscientific) after 0, 24, 48, 72, 96, 120 and 168 hours. Wells with absorbance superior to 0.25 were considered as positive (A *et al.* 2017) after their values were corrected by subtracting the initial sample absorbance and the absorbance of blank. The average well color

development (AWCD) was calculated according to equation (1) (Garland, 1996). The catabolic richness was assessed by dividing the number of positive substrates by the total number of substrates (31).

$$AWCD = \frac{\sum(C-C_0-B)}{31} \quad (1)$$

where C is the absorbance of each well, C₀ the initial absorbance and B the blank.

XII.2.5.2. Substrates total enzymatic activity

The total microbial enzymatic activity was studied using the fluorescein diacetate (FDA) hydrolysis as described by (Green *et al.*, 2006). The 96 microplate wells were filled with 100 μL of sample solution (1 g of substrate in 5 mL of demineralized water), 50 μL of sodium tetraborate decahydrate-hydrochloric acid buffer (for alkaline pH) and 50 μL of FDA solution (3 g/L). Microplates were then incubated at 37 °C for 2 hours on a shaker (200 rpm). At the end of the incubation, microplates were centrifuged for 10 minutes at 1500 rpm. In a new microplate containing 100 μL of the same buffer (iced), 100 μL of supernatant of the first microplate was transferred. Finally, the absorbance of each well was measured at 490 nm using the SAFAS Monaco microplates spectrophotometer (Xenius XML). The quantity of fluorescein produced from hydrolyzed FDA was calculated using calibration curves and expressed as μg fluorescein /g dry soil /h.

XII.2.5.3. Substrates bacterial genetic diversity

DNA was extracted from 500 mg of substrates using the FastDNA® Spin Kit for soil (MP Biomedical, USA) by following the different steps of the manufacturer's manual. The DNA of the samples at the beginning and the end of incubation were extracted. The quality of extraction was verified by an electrophoresis gel (1% agarose) and the quantity of DNA was measured by Nanovue plus (Biochrom). The composition of bacterial communities was analyzed by high-throughput sequencing, using the Illumina MiQSeq, performed by Eurofins Genomics (Germany). The V3–V4 variable regions of the bacterial 16S rRNA gene was amplified with forward primer: TAC GGG AGG CAG CAG and reverse primer: CCA GGG TAT CTA ATC C, where after the PCR products were sequenced.

The obtained sequences/amplicons were then processed on the open-source software QIIME 2 version 2021.11 (Bolyen *et al.*, 2019). First, the raw sequences were filtered according to their quality score, then denoised and the chimera were checked using DADA2 plug-in, according to Callahan *et al.*, 2016). Sequences were aligned using MAFFT program (Kato and Standley, 2013), and were used to construct a phylogeny using FastTree software (Price *et al.*, 2009). The taxonomic annotation of the resulting amplicon sequence variants (ASVs) was assigned using the Greengenes 13_8 database (McDonald *et al.*, 2012) and the feature-classifier command with default parameters. To remove sample heterogeneity, we performed rarefaction on the number of sequences. The approach of rarefaction is to randomly sample the same number of sequences from each sample and use this data to compare the communities at a given level of sampling effort.

XII.2.6. *Data analysis*

XII.2.6.1. Modeling of biodegradation kinetics

Modeling of OMP biodegradation kinetics was performed on the Gmkin software package (Ranke, 2021) of R software (R Core Team, version 4.2.2, 2022). The data were converted to percentage of OMP (according to the initial content), and modeling was based on six-time steps and three replicates. To select the model that best fits the degradation kinetics of OMP, the manual of the FOCUS work group (Boesten *et al.*, 2014) was used. Four kinetic models were tested: Single First-Order (SFO, equation (2)), First-order multi-compartment (FOMC, equation (3)), Hockey-Stick (HS, equations (4.1) and (4.2)) and Modified Hockey-Stick (MHS, equations (4.1) and (4.2)). SFO is a simple exponential equation which assumes that the number of compound molecules is small compared to the number of degrading micro-organisms and their enzymes. FOMC is a first order bi-phasic model which assumes that soil is an heterogeneous medium and then divides it into few numbers of sub-compartments, each with a different degradation rate constant (Boesten *et al.*, 2014). HS is also first-order bi-phasic model, but which assumes two sequential first-order curves with a breakpoint at a specific time. MHS is the same model as HS but introduces a lag phase with no degradation before the breakpoint *t_b* by setting *k*₁ = 0 (Boesten *et al.*, 2014).

$$C_t = C_0 * e^{-k*t} \quad (2 : SFO)$$

$$C_t = \frac{C_0}{\left(\frac{t}{\beta} + 1\right)^\alpha} \quad (3: FOMC)$$

$$C_t = C_0 * e^{-k_1*t} \quad \text{for } t \leq tb \text{ and } C_t = C_0 * e^{-k_1*tb} * e^{-k_2*(t-tb)} \quad \text{for } t > tb \quad (4.1 : HS \text{ and MHS})$$

$$C_t = C_0 \text{ for } t \leq tb \text{ and } C_t = C_0 * e^{-k_2*(t-tb)} \quad \text{for } t > tb \quad (4.2: HS \text{ and MHS})$$

were C_t is the OMP content (%) at time t (day), C_0 is the initial OMP content (%), k , k_1 and k_2 are degradation rate constants (day^{-1}). A is a dimensionless FOMC shape parameter determined by coefficient of variation of k values, β is a dimensionless location parameter. T_b is the HS and MHS breakpoint time (day) at which rate constant changes. $K1 = 0$ describes in the MHS model the initial phase with no degradation, the lag phase.

Each kinetic dataset was modeled according to the four models described above, the C_0 was fixed to 100% and the other parameters were then optimized. According to *Boesten et al. (2014)* the model with the lowest χ^2 , is the one that best describes the data. The χ^2 measurement error is defined as the deviation between calculated and observed data in relation to the uncertainty of the measurements. According to *Boesten et al., (2014)*, χ^2 below 15% indicates a good fit and validate the model. To improve the fit, outliers were identified according to whether the values were outside the min and max curves defined by the confidence intervals of the different kinetic parameters (k , α , β) obtained with the whole data set. If outliers present, they were removed and the remaining data remodeled. The half-life (DT50, time required for the OMP content to decline to half of the initial value) was calculated with the best fitting model according to equations (5, SFO), (6, FOMC), and (7, HS and MHS). The confidence intervals of the DT50 were calculated from the 95% confidence intervals given for the kinetic parameters. Only results obtained for the best fitted model are presented in this paper.

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k} \quad (5: SFO)$$

$$DT_{50} = \beta \left(2^{\left(\frac{1}{\alpha}\right)} - 1 \right) \quad (6: FOMC)$$

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k_1} \quad \text{if } DT_{50} \leq tb \quad (7.1: HS \text{ and MHS})$$

$$DT_{50} = t_b + \frac{(\ln 2 - k_1 t_b)}{k_2} \quad \text{if } DT_{50} > tb \quad (7.2: HS \text{ and MHS})$$

XII.2.6.2. Bioinformatics processing of genetic diversity

To calculate alpha and beta diversity metrics on QIIME 2 software, all samples were normalized to the minimal number of sequences in a sample which was 51,266. The saturation of the diversity remained sufficient (supplementary Figure 3.42). Alpha diversity was investigated through observed ASVs (number of different taxa observed), Shannon index and Pielou evenness index. The observed ASVs were selected to evaluate community richness, Shannon index to assess community diversity and evenness index to evaluate the regularity of taxa through distribution of their abundance (*Callahan 2017; Willis 2019; Faith 1992*). Beta-diversity was applied to evaluate differences of bacterial community between all samples based on ASV composition (*Callahan 2017, Anderson 2011*). Thus, principal coordinate analysis (PCoA) from weighted UniFrac (based on abundance and phylogenetic of taxa) and Bray-Curtis (based on abundance of taxa) distances were carried out. Without normalization of ASVs to the minimal number, bacterial taxonomy of samples was evaluated through histograms of relative abundances of taxa, at the level of phyla, and through a Z-score heat map of relative abundance of genera (with abundance > 1 % for both).

Differential enrichment of bacterial features between conditions and substrates was determined using linear discriminant analysis (LDA) effect size (LEfSe; *Segata et al., 2011*), with the one-against-one multiclass analysis. An LDA score of 2 and a significance alpha of 0.05 (Kruskal-Wallis's test) were used as thresholds. Analysis was carried out for each substrate according to the different conditions

(comparison of planted vs. unplanted and polluted vs. unpolluted) at the final time only (T30). Taxa that have not been identified at least to order level were not included.

XII.2.6.3. Statistics

All statistical analyses were performed with the open-source software R (R Core Team, version 4.2.2, 2022). Most of the figures were designed with the package “ggplot2” (Wickham, 2016). To assess the correlation between the model and the degradation kinetics data, Pearson correlation tests were performed. PCAs were performed to identify the variables that best explained the variations between samples. The “factomineR” package and the “factoshiny” function were used (Lê et al., 2008) to perform the PCAs. Non-parametric multiple comparison tests were performed using the Kruskal-Wallis’s (KW) test and Conover’s pairwise comparison with Bonferroni adjustment (“conover.test” package used, Dinno, 2017). When a comparison was made between two variables only, the bivariate Wilcoxon test was used. A test was considered significant if the p-value obtained was less than 0.05. For DNA data, multiple comparisons were also carried out using the Kruskal Wallis test to compare taxa and alpha diversity. For beta diversity, a PERMANOVA was performed. The heatmap of genus abundances was produced using the “pheatmap” package (Kolde, 2012).

XII.3. Results

XII.3.1. Substrate characterization

Table 3.25 gives the physicochemical properties of the three substrates evaluated. The data reveal that sediment and RC were much more organic (103.6 and 27.5 g/kg respectively) than sand (1.6 g/kg), which partially explains their greater CEC, 19.8 and 37.4 me/100 g respectively against 2.2 me/100 g for sand. Finally, sediment was more acid (7.87 against 8.62 and 8.79 for sand and RC respectively) and contained much more nitrogen and silt than sand and RC. The initial pollutant contents in sand and RC were almost always below the detection limit (0.004 µg/g dry for 4-OP in RC only) indicating absence of contamination. The sediment appears to be contaminated, containing significant levels of BPA, 4-NP and 4-OP (0.288, 0.372 and 0.060 µg/g dry respectively). Thus, 4-NP was the most present compound in sediment. These values are in the same range as observed by other authors like (Flanagan et al., 2019b).

Table 3.25: Physicochemical properties of sand, Rainclean and sediment (TOC: Total Organic carbon; TN: Total Nitrogen; CEC: Cation Exchange Capacity), initial and spiked contents (standard deviation) and retention (standard deviation) of bisphenol A (BPA), 4-nonylphenol (4-NP) and 4-t-octylphenol (4-OP).

| Substrate | TOC g/kg | TN g/kg | pH | CEC me/100g | Clay % | Silt % | BPA µg/g | 4-NP µg/g | 4-OP µg/g | BPA retained % | 4-NP retained % | 4-OP retained % |
|------------------|-------------|------------|------|----------------|-----------|-----------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| <u>Sand</u> | | | | | | | <0.002 | <0.002 | <0.002 | | | |
| <i>spiked</i> | 1.57 | 0.53 | 8.62 | 2.20 | 1.2 | 9.1 | 0.270 (0.09) | 0.515 (0.19) | 0.086 (0.03) | 35.2 (2.87) | 92.3 (2.25) | 98.4 (0.28) |
| <u>Rainclean</u> | | | | | | | <0.002 | <0.002 | 0.004 | | | |
| <i>spiked</i> | 27.5 | 0.37 | 8.79 | 37.4 | 1.5 | 17.3 | 0.391 (0.07) | 1.321 (0.68) | 0.220 (0.04) | 52.1 (9.13) | 93.3 (3.29) | 98.5 (0.52) |
| <u>Sediment</u> | | | | | | | 0.288 | 0.372 | 0.060 | | | |
| <i>spiked</i> | 104 | 5.46 | 7.87 | 19.8 | 6.6 | 64.1 | 1.425 (0.03) | 2.339 (0.26) | 2.166 (0.14) | 69.4 | 97.9 | 99.8 |

The adsorption as measured from spiking appeared to be conditioned by the OMP and substrates physicochemical properties (Table 3.25). 4-NP and 4-OP were more retained than BPA, according to their higher adsorption capacity (Corrales et al., 2015; ECHA, 2023a; Yamamoto et al., 2003). The adsorption of BPA, seems to be conditioned by the organic carbon content according to its higher water solubility and pKa (Corrales et al., 2015; Soares et al., 2008).

XII.3.2. (Bio)degradation kinetics

In this paragraph we try to bring some insights in the degradation kinetics of the studied OMP and their eventual difference as function of substrate, pollutant and exposure. Figure 3.33 resumes the biotic and abiotic degradation kinetics of BPA, 4-NP and 4-OP of the different substrates and exposure condition (planted, unplanted, sterile) during the 30 days of incubation. The lines represent the model fit with the lowest χ^2 error. The χ^2 error associated with the different models varied between 0.77 and 14.32 %, with an average inferior to 10 % (Table 3.26). The Pearson correlation test R-values between 0.934 and 0.994 (p -value $< 10^{-7}$) confirms that these models described well the obtained data and can be validated (Boesten *et al.*, 2014). The elimination of outlier allowed to have more consistent data and to lower the model error.

For all substrates and conditions, a relatively fast degradation was observed during the first 10 days (Figure 3.33). This phase was then followed by a slower or almost zero decline. For the alkylphenol degradation in sand, a lag phase of 3 to 7 days was observed. This phenomenon also appeared for other substrates but was less systematic and was probably linked on one hand to the bioavailability and on the other hand to the bacteria faculty to degrade. The alkylphenols are less water soluble and therefore less available for bacteria than BPA, moreover the presence of organic matter like in RC and sediment is known to enhance the biodegradability (Hayashi *et al.* 2005). On the other hand, a residual phase of OMP was always observed for RC and sediment at the end of the experiment, except for BPA and 4-NP in planted RC.

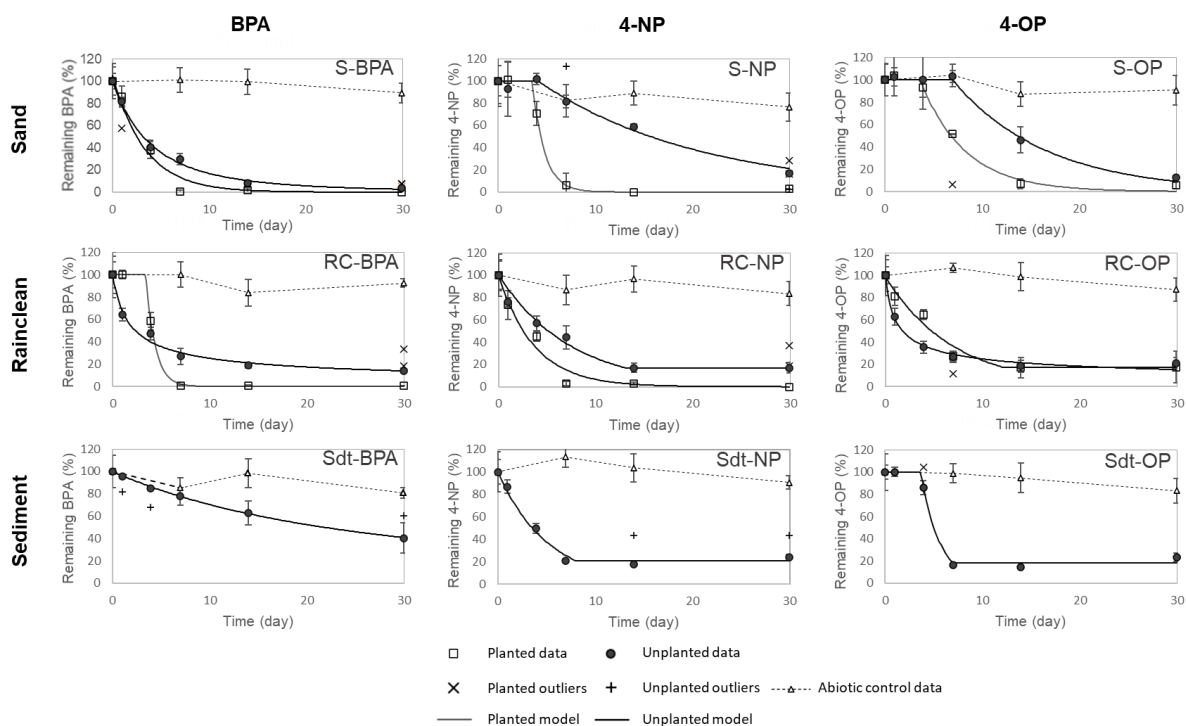


Figure 3.33 : Degradation kinetics of bisphenol A (BPA), nonylphenol (NP) and octylphenol (OP) in sand (S), Rainclean (RC) and sediment (Sdt). Squares and circles represent the measured values for planted and unplanted conditions respectively; triangles represent abiotic control values; the cross and plus signs represent the outliers. The lines represent the modeled values. Bars indicate the standard deviation of the mean ($n=3$).

As we can see in Table 3.26, the BPA degradation is globally better described by first order (SFO) and first-order multi-compartment (FOMC) kinetics, while alkylphenols correspond better to Hockey stick (HS/MHS) model. Alkylphenol degradation in sand was globally the best described by MHS as well in planted as in unplanted conditions. For the other two substrate there is no clear picture. The unplanted RC as well as the sediment showed for all OMP a small refractory part of about 20% remaining at the end of experiment, probably adsorbed to the organic matter and not available to the microorganisms. This behavior was the best described by the double first order model MHS, with a breakpoint around 10

Table 3.26: Fitted parameters of the three kinetic models used (Single-First Order SFO, First-order multi-compartment FOMC and Hockey-Stick HS) of bisphenol-A (BPA), nonylphenol (4-NP) and octylphenol (4-OP) degradation. The half-life times (DT50) are given with their 95 % confidence intervals (min-max). The percentages of degradation at the end of incubation (30 days) are given for biotic and abiotic conditions. Goodness of fit is given by the χ^2 error level and the Pearson correlation coefficient R (all p-values of the correlation test were inferior to 10^{-7}). BPA, 4-NP and 4-OP characteristics (Corrales et al., 2015; ECHA, 2023a; Yamamoto et al., 2003).

| Modality | Best model | Estimated parameters (according to the model) | | | | | Degradation time | | Degradation after 30 days | | Goodness of fit | |
|--|------------|---|--------------|----------------|----------|---------|------------------|----------------------|---------------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|
| | | k or k1 (d-1) | k2 (d-1) | tb (d) | α | β | DT50 (d) | Confidence intervals | Biotic system (%) | Abiotic control (%) | χ^2 error level | R Pearson correlation |
| | | SFO/HS/MHS | HS/MHS | | FOMC | | | | | | | |
| BPA (log Kow 3.4, water solubility 300 mg/l) | | | | | | | | | | | | |
| Planted-sand | SFO | 0.296 | - | - | - | - | 2.34 | 1.89-2.89 | 99.6 (0.7) | 10.4 (9) | 14.12 | 0.9791 |
| Planted-RC | MHS | 0 | 1.054 | 3.4 | - | - | 4.06 | 3.94-4.20 | 99.0 (0.1) | 7.5 (3.7) | 2.22 | 0.9932 |
| Unplanted-sand | FOMC | - | - | - | 2.892 | 11.753 | 3.18 | 2.87-3.56 | 96.1 (1.9) | 10.4 (9) | 6.69 | 0.9823 |
| Unplanted-RC | FOMC | - | - | - | 0.57 | 0.978 | 2.32 | 2.12-3.27 | 85.8 (2.2) | 7.5 (3.7) | 9.49 | 0.9601 |
| Unplanted-sediment | FOMC | - | - | - | 1.748 | 44.655 | 21.73 | 20.96-68.0 | 59.6 (13.4) | 19.1 (4.8) | 0.77 | 0.9557 |
| 4-NP (log Kow 5.4, water solubility 5.7 mg/l) | | | | | | | | | | | | |
| Planted-sand | MHS | 0 | 0.798 | 3.48 | - | - | 4.35 | 3.84-5.59 | 99.1 (1.5) | 23.6 (12.6) | 2.89 | 0.9726 |
| Planted-RC | SFO | 0.272 | - | - | - | - | 2.55 | 1.96-3.31 | 98.5 (1.6) | 16.6 (10.8) | 14.32 | 0.9678 |
| Unplanted-sand | MHS | 0 | 0.0599 | 4.06 | - | - | 15.63 | 11.35-22.42 | 83.2 (1.8) | 23.6 (12.6) | 4.9 | 0.9343 |
| Unplanted-RC | HS | 0.136 | 5.2E-04 | 13.09 | | | 5.11 | 4.13-6.31 | 83.2 (4.7) | 16.6 (10.8) | 12.66 | 0.9678 |
| Unplanted-sediment | HS | 0.195 | 1.1E-11 | 8.07 | - | - | 3.55 | 3.09-4.08 | 78.1 (4.0) | 9.4 (5.9) | 8.67 | 0.9851 |
| 4-OP (log Kow 4.8, water solubility 7 mg/l) | | | | | | | | | | | | |
| Planted-sand | MHS | 0 | 0.218 | 3.62 | - | - | 6.81 | 5.88-8.10 | 94.5 (2.9) | 9.0 (13.3) | 5.68 | 0.9774 |
| Planted-RC | HS | 0.144 | 4.6E-10 | 12.15 | | | 4.83 | 3.62-6.44 | 82.6 (14.1) | 12.7 (10.3) | 10.29 | 0.966 |
| Unplanted-sand | MHS | 0 | 0.104 | 6.97 | - | - | 13.63 | 11.58-16.60 | 87.6 (2.1) | 9.0 (13.3) | 2.78 | 0.952 |
| Unplanted-RC | FOMC | - | - | - | 0.456 | 0.491 | 1.75 | 1.56-2.36 | 78.8 (4.6) | 12.7 (10.3) | 8.03 | 0.971 |
| Unplanted sediment | Double MHS | 0 then 0.509 | then 5.5E-05 | 3.62 then 6.97 | - | - | 4.96 | 4.35-6.04 | 76.6 (3.6) | 16.8 (11.3) | inf | 0.994 |

days where after the OMP remain constant, and was the best describes by the FOMC when a slow decrease was still observed.

Fitting a model enable to calculate the half-time (DT50) of OMP (Table 3.26). BPA was the most rapidly degraded compound, with DT50 between 2.34 and 4.06 days under planted conditions, and between 3.18 and 2.32 days under unplanted conditions for sand and RC respectively (Table 3.26). The RC gave for all substances lower DT50 than sand (except for BPA in planted condition), with DT50 of 4-NP ranging from 2.55 to 5.11 and from 1.75 to 4.83 for 4-OP. The sediment showed degradation comparable to those of RC (DT50 of 3.55 and 4.96 for 4-NP and 4-OP) with exception of BPA (DT50 of 21.7 days), probably due to high BPA adsorption by organic matter present in sediment. The final experiment confirms the results of the preliminary test. The preliminary test (n=6) showed further that the column tests are in average 59 ± 15 % slower than the corresponding batch test, with a bigger difference for sand (71 ± 11 %) than for RC (47 ± 14 %). This confirms the importance of right set-up of the assay to describe the field processes.

Figure 3.34 gives the answer to the frequently put question how the plant influences the degradation kinetics. The Figure 3.34A represents the degradation levels at the end of the experiments, with the contribution of abiotic, biotic without plant and biotic with plant degradation. Globally between 60 and 99.6 % of pollutant were eliminated after 30 days. If corrected for the abiotic control, values ranged from 40 (60 if sediment isn't considered) to 92 %, the numbers are somewhat lower. Thus, biotic degradation was the main factor controlling the OMP elimination (biotic degradations significantly different from abiotic degradations, KW p-values < 0.03, and no significant degradation in abiotic controls occurred after 30 days, except for BPA in sediment). No specific tendency linked to substrate was observed (KW p-values > 0.05). Concerning pollutant, the BPA was more easily degraded except in sediment (40 or 78 % without sediment – 92%) than the alkylphenols, with little difference between 4-NP and 4-OP (60 – 82 % and 60 – 85 % respectively). The most significant tendency was the difference between planted and unplanted conditions (Figure 3.34A), with systematically and significantly more percentages of degradation in all planted treatments after 30 days (all KW p-values < 0.05, except 4-OP in RC) : 96.1, 83.2 and 87.6 % degradation in unplanted condition against 99.6, 99.1 and 94.5 % degradation in planted condition for BPA, 4-NP and 4-OP in sand ; 85.8, 83.2 and 78.8 % degradation in unplanted condition against 99.0, 98.5 and 82.6 % degradation in planted condition for BPA, 4-NP and 4-OP in RC.

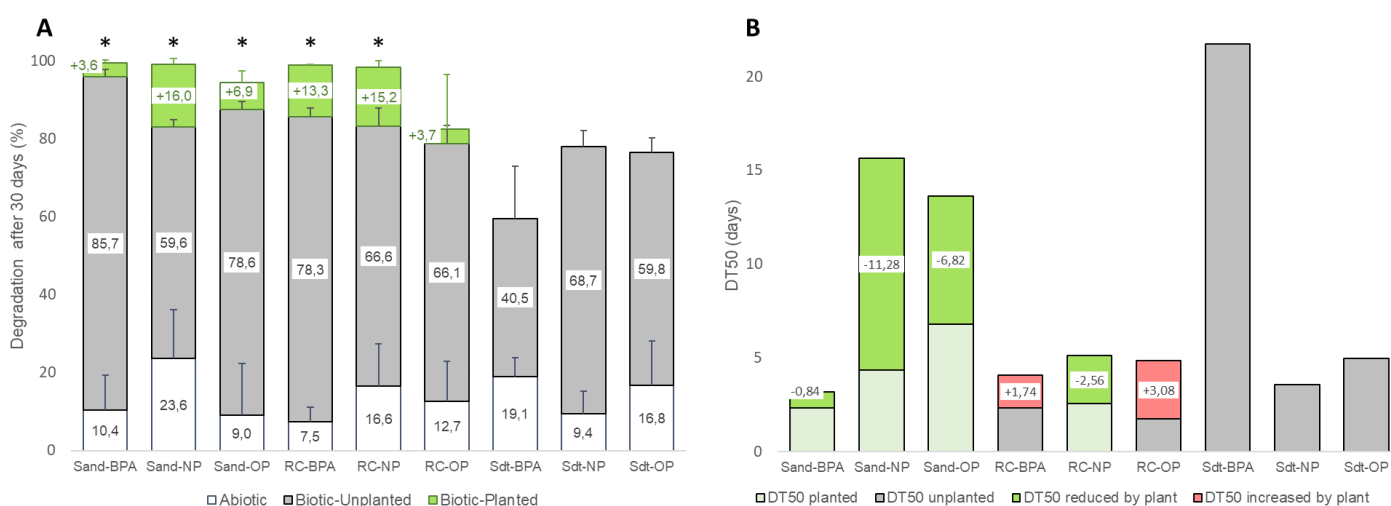


Figure 3.34: Comparison of percentage of degradation (A) and DT50 (B) for the different substrates (sand, RC and sediment) and OMP (BPA, 4-NP and 4-OP). A: The contribution of abiotic, biotic without plant and biotic with plant is represented (the total of the 3 thus corresponds to the total degradation of the planted condition). * indicates significant difference (Kruskal-Wallis p-value < 0.05) of degradation between planted and unplanted condition; error bars correspond to standard deviation. B: When DT50 unplanted < DT50 planted, the decrease by

the plant is shown in green. When DT50 planted > DT50 unplanted, the increase by the plant is shown in red. The decrease or increase in DT50 is then specified.

The DT50 gave less systematic picture (Figure 3.34B). In sand, the DT50 were always lower under planted than unplanted condition, with a more pronounced decrease for 4-NP and 4-OP, falling from 15.6 and 13.6 days to less than 5 and 7 days respectively. RC and 4-NP behaved in the same manner with decrease of the DT50, but for BPA and 4-OP, the presence of plants increased the DT50, which seems contradictory with the results shown by the pollutant part eliminated after 30 days (Figure 3.34A). Some explanation might be found in the models used, switching from models with and without lag phase like for example BPA. Sometimes, only one measurement point is present between the minimum and maximum OMP level, producing more uncertainty for the DT50 estimated by the model.

To better analyze the data obtained and close the kinetic section, kinetics were represented by the DT50 and the percent of biodegradation, pollutants characteristics were represented by the octanol water partition coefficient, the K_{ow} using the ECHA database (ECHA, 2023a, 2023b, 2023c), and substrates were described by the organic carbon content and the exchange capacity (CEC). According to these variables the principal component analysis (Figure 3.35) identified 3 principal pools of samples linked to substrate characteristics rather than to the pollutant type: sand, RC and somewhere sediment. Because of high BPA degradation, planted and unplanted sand intersect themselves, but planted sand was correlated to more degradation whereas unplanted sand was correlated to higher DT50. Planted and unplanted RC were correlated to low DT50, and planted RC to higher degradation. Finally, sediment was strongly correlated to high CEC and organic carbon content and was closer to RC for alkylphenol only.

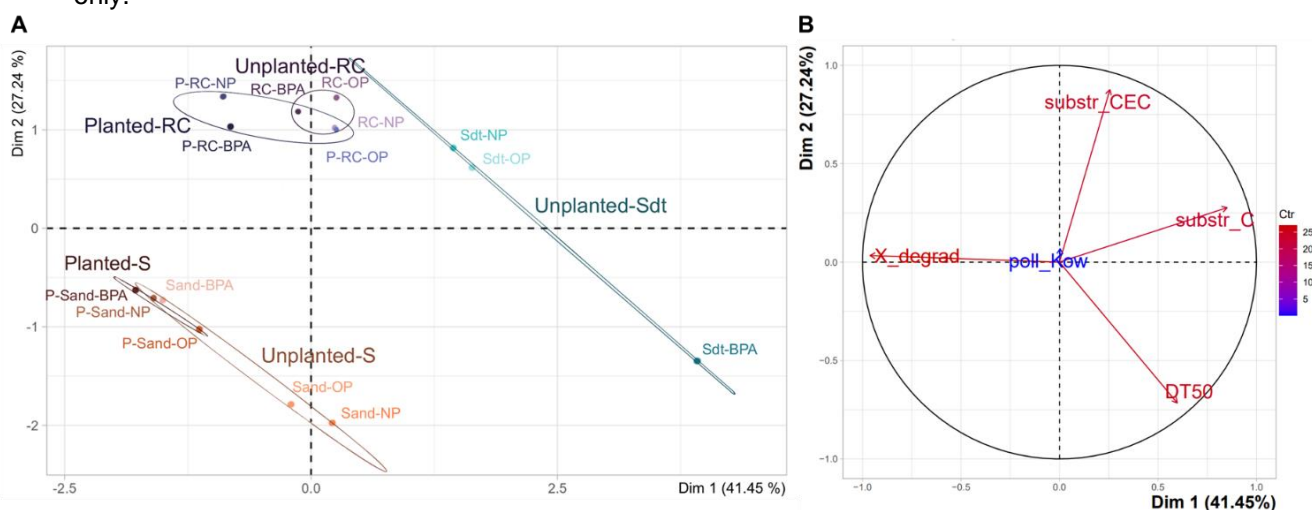


Figure 3.35: Principal component analysis (PCA) of all samples according to pollutant K_{ow} ($poll_Kow$), percent of degradation (X_degrad), DT50, substrate carbon content ($substr_C$) and CEC ($substr_CEC$). Axes 1 and 2 explained respectively 41.45 % and 27.24 % of the total variance. **A:** projection of data set variability plotted on a factorial map of the first two discriminating axes according to substrates and their conditions. S: sand, RC: Rainclean. Sdt: sediment. Ellipses represent confidence intervals (95 %). **B:** correlation circles plot with variable vectors for each respective factor, colored according to their contribution.

XII.3.3. Evolution of microbiological and biochemical properties

XII.3.3.1. Functional diversity

The AWCD and catabolic richness as calculated from multi-substrate degradation test Biolog Ecolplate™ are shown in Table 3.27. A significant difference between the three substrates was observed, with highest number of substances degraded and intensity of the degradation in the sediment and the lowest in RC (KW p-values < 0.04). This capacity decreased slightly for all substrates with time, but decreased significantly for unplanted and control sand and sediment (AWCD variation rates between -11.6 and -46.8 %, KW p-values < 0.01). The presence of *P. australis* significantly increased (KW p-values < 0.04) the functional diversity at the end of the kinetics for sand and RC, by about + 38 %, indicating that the root exudates might enhance the microbiota degradation potential. These tendencies are the same if estimated by the catabolic diversity index or AWCD. Finally, the presence of OMP induced a significant higher capacity to degrade only in sand.

Table 3.27: Mean (standard deviation, n=3) of calculated substrate functional diversity parameters at initial (T0) and final (T30) time of biodegradation kinetics. AWCD: average well color development. S: Sand; RC: Rainclean; Sdt: Sediment. The control here is the unpolluted control. For each parameter, values followed by different letters differ significantly with $p < 0.05$ with Kruskal-Wallis then Conover comparison test. For the same sample between T0 and T30, a significant difference is expressed by adding an asterisk at T30 (same statistical test).

| Sample | AWCD | | Catabolic richness | |
|---------------|----------------|----------------|--------------------|-----------------|
| | T0 | T30 | T0 | T30 |
| Planted-S | 1.12 (0.13) b | 0.99 (0.13) b | 82.8 (7.45) b | 66.1 (2,28) a* |
| Unplanted-S | 1.11 (0.23) b | 0.72 (0.08) a* | 82.8 (7.45) b | 53.8 (3.72) b* |
| Control-S | 0.62 (0.02) c | 0.33 (0.17) d* | 54.8 (4.56) c | 30.1 (8.12) e* |
| Planted-RC | 0.83 (0.13) a | 0.68 (0.16) a | 68.8 (7.45) a | 57.0 (9.86) ab |
| Unplanted-RC | 0.65 (0.19) c | 0.49 (0.10) cd | 56.5 (15.97) c | 41.9 (9.12) c |
| Control-RC | 0.69 (0.16) ac | 0.51 (0.21) c | 55.9 (8.12) c | 39.8 (9.86) ce* |
| Unplanted-Sdt | 2.16 (0.02) d | 1.91 (0.08) e* | 100 (0) d | 96.8 (0.01) d* |
| Control-Sdt | 2.10 (0.04) d | 1.81 (0.03) e* | 100 (0) d | 97.8 (1.86) d* |

XII.3.3.2. Total enzymatic activity

Figure 3.36 represents the evolution of total enzymatic activity during the incubation according to substrates and conditions, as measured by FDA hydrolysis. Like functional diversity, all three substrates (regardless of modality and time) were significantly different (KW p-values $< 10^{-16}$), with total enzymatic activity in sediment (average of 45 $\mu\text{g/g/h}$) \gg sand (average of 3.5 $\mu\text{g/g/h}$) $>$ RC (average of 0.3 $\mu\text{g/g/h}$). The activity changed slightly with time, decreasing significantly in unplanted sand only (KW p-values < 0.04) and increasing in planted and unplanted RC (KW p-values $< 10^{-4}$) while no difference was observed for unplanted sediment. Contrary to functional diversity, an inverse effect of *P. australis* was observed. Enzymatic activity was significantly higher in unplanted than planted sand at 7, 14 and 30 days (KW p-values < 0.05) and was significantly higher in unplanted RC at 14 days (KW p-value = 0.01). Finally, exposition to OMP also impacted sand and RC (planted and unplanted). Enzymatic activity was significantly lower than control at 0 and 30 days for sand (KW p-values < 0.04) and was significantly higher at 14 days of incubation for RC (for unplanted RC only, KW p-value = 0.0004). Unplanted sediment was significantly more active than control at 0 and 14 days (KW p-values < 0.001).

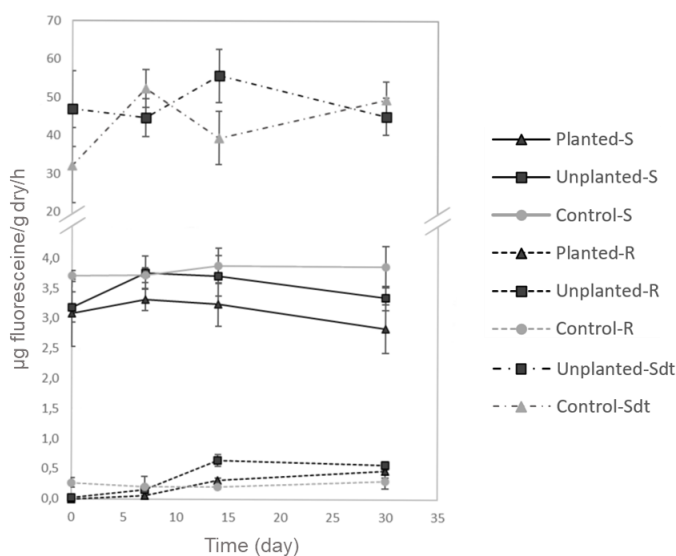


Figure 3.36: Evolution of total enzymatic activity (hydrolysis of FDA) during kinetics according to substrates and modalities. S: Sand; R: Rainclean; Sdt: Sediment. Control corresponds to the unpolluted control. Bars represent the standard deviation. For data visibility, the scale is not the same between the two figures.

XII.3.3.3. Bacterial community structure and diversity

Initially, the sequencing generated a range of raw sequences, varying from 60 422 to 244 128 depending on the samples. Following the denoising step, the number of sequences retained ranged from 51 294 to 178 199, representing 73 to 87 % of the initial count. After data processing, a total of 10 069 distinct ASV were identified. The number of different features varied between 600 and 1 668, depending on the sample.

The composition of the microbial community was assessed in each substrate. Figure 3.37 illustrates the relative abundance of dominant bacterial phyla (> 1 %) in the substrates at initial and final time of biodegradation experiment.

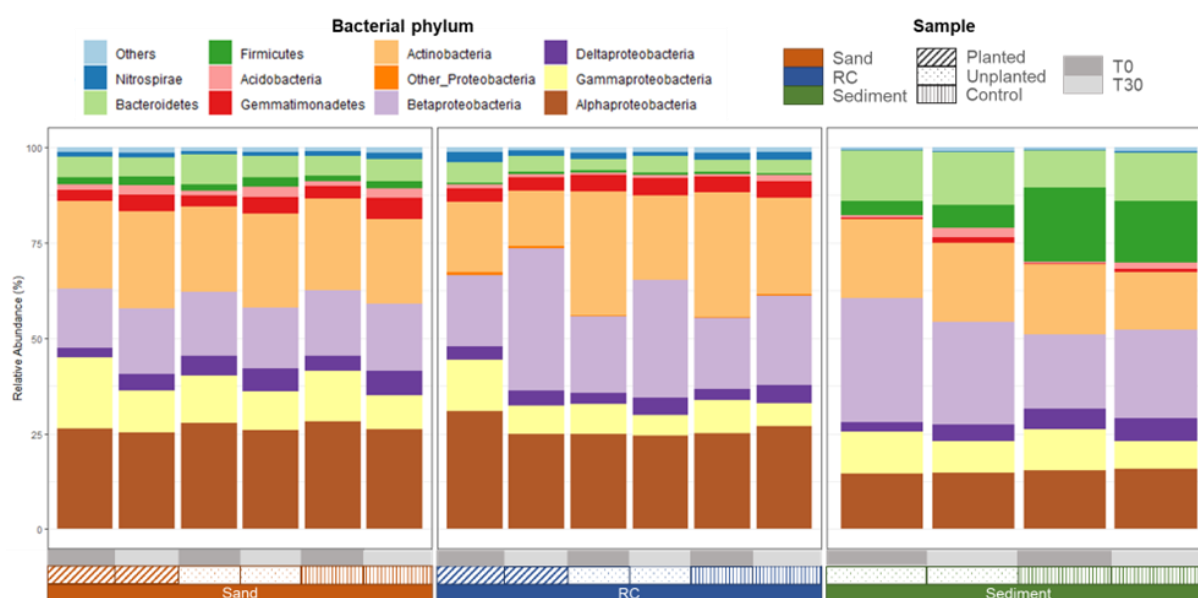


Figure 3.37: Relative abundance (%) of the most abundant bacterial phyla (>1 %) in sand, RC and sediment, according to modality (planted, unplanted and control) and time (initial, T0 and final, T30). Proteobacteria are divided in classes and bacterial phyla with an abundance of less than 1% are grouped in "other". Control corresponds to the unpolluted control.

Among the fifteen detected phyla with abundances greater than 0.1 %, seven phyla (Proteobacteria, Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Acidobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, and Nitrospirae) dominated, comprising 98.5 % to 99.4 % of the total bacterial communities. Proteobacteria were consistently the most dominant phylum in all substrates, ranging from 58 to 63 % in sand, 56 to 74 % in RC and 51 to 60 % in sediment. Actinobacteria followed as the second most abundant phylum representing 22 to 25 % in sand, 15 to 33 % in RC and 15 to 21 % in sediment. Bacteroidetes and Gemmatimonadetes were also notable contributors. Less abundant phyla included Acidobacteria, Firmicutes, Nitrospirae, and Others. Sand, RC and sediments showed similar overall abundances of Proteobacteria and Actinobacteria, but significantly different abundances of less represented phyla (KW p-values < 0.05). In sand, Alphaproteobacteria were dominant, followed by Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria and finally Deltaproteobacteria. For RC, the order was the same, with Alphaproteobacteria similar to Betaproteobacteria. Finally, Betaproteobacteria dominate, followed by Alphaproteobacteria and Gammaproteobacteria in sediments. In the presence of *P. australis*, bacterial communities of sand and RC were significantly impacted at the phylum level. Planted sand showed higher abundance of Gammaproteobacteria (47 % variation rate VR between unplanted and planted at T0, supplementary Table 3.31) and Nitrospirae (53-35 % VR at T0 and T30), but had less Deltaproteobacteria (51-26 % VR at T0 and T30) and Bacteroidetes (32 % VR at T0) than unplanted sand. The planted RC had significantly more Gammaproteobacteria (70-40 % VR between unplanted and planted RC at T0 and T30), other Proteobacteria (277-307 % VR at T0 and T30), Acidobacteria (41 % VR at T0), Bacteroidetes (89 % VR at T0) and Nitrospirae (42-40 % VR at T0 and T30) but had fewer Actinobacteria (43-34 % VR at T0 and T30) and Gemmatimonadetes (23-22 % VR at T0 and T30) than the unplanted RC. Thus, *P. australis* induced more changes in the RC than sand. The presence of OMP had less impact on microbial communities at the phylum level. For sand and RC, little impact on phyla

only at T30 occurred, with significant lower abundances of Nitrospirae (36 and 51 % VR conditions at T30 for sand and RC respectively) in unplanted than in control. Finally, more differences were observed in the sediments, with a significantly higher abundance of Betaproteobacteria (66-16 % VR at T0 and T30), Actinobacteria (38 % VR at T30), Acidobacteria (31-48 % VR at T0 and T30) and Bacteroidetes (34 % at T0) and less abundance of Deltaproteobacteria (52-30 % VR for T0 and T30), Firmicutes (80-63 % VR at T0 and T30) and Nitrospirae (26-27 % VR at T0 and T30) in unplanted compared with control sediments. Thus, 5 hours of contact with OMP (T0) changed the accessibility of bacterial populations to extraction.

The alpha diversity within a particular ecosystem; expressed by the number of specie and quantified by the Shannon index, Pielou evenness index (not shown), and taxa number revealed variations in bacterial communities across samples (Table 3.28). Among the substrates, sediment showed significantly lower diversity compared to sand and RC (KW p-values < 0.01) in terms of Shannon index (7.97 on average, vs. 8.94 and 8.74 in sand and RC respectively) and number of taxa observed (771 vs. 1409 and 1314 in sand and RC). Although there was no significant difference between the RC and sand, the latter had higher values of the 3 alpha diversity indices. The presence of *P. australis* had impact on the initial alpha diversity in sand and RC (KW p-values > 0.05 at T30 for both substrates). For sand, the planted condition was significantly less diversified than the unplanted one at the beginning of the experiment (Shannon index and taxa number KW p-values < 0.05). Conversely, for RC it was the opposite, the planted condition showed significantly higher diversity than unplanted one at the beginning (Shannon index and taxa number significantly lower, KW p-values < 0.05). Hence, the presence of *P. australis* had different effects depending on the substrate type. Regarding OMP exposure, no significant differences were observed for all substrates (KW p-values > 0.05) when comparing unplanted and control conditions. Due to having only 2 replicates for the control condition only (3 for planted and unplanted conditions), the statistical robustness was insufficient to reveal significant differences. Overall, diversity significantly increased with time for sand (KW p-values < 0.05), significantly decreased for planted RC (KW p-values < 0.05) and remained unchanged for sediment (KW p-values > 0.05).

Table 3.28: Mean (standard deviation, n=3) of calculated alpha diversity parameters using Shannon Index and taxa number at initial (T0) and final (T30) time of biodegradation kinetics. S: Sand; RC: Rainclean; Sdt: Sediment. Control corresponds to the unpolluted control. For each parameter, values followed by different letters differ significantly with $p < 0.05$ with Kruskal-Wallis then Conover comparison test. For the same sample between T0 and T30, a significant difference is expressed by adding an asterisk at T30 (same statistical test).

| Sample | Shannon | | Taxa number | |
|---------------|------------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|
| | T0 | T30 | T0 | T30 |
| Planted-S | 8.46 (0.14) <i>bcd</i> | 9.00 (0.12) <i>ad</i> * | 1219 (57) <i>bc</i> | 1294 (182) <i>abc</i> |
| Unplanted-S | 8.91 (0.11) <i>ae</i> | 9.18 (0.06) <i>d</i> * | 1484 (52) <i>ad</i> | 1580 (51) <i>a</i> * |
| Control-S | 8.72 (0.11) <i>ace</i> | 9.35 (0.04) <i>d</i> * | 1318 (125) <i>abd</i> | 1555 (93) <i>ab</i> |
| Planted-RC | 9.33 (0.02) <i>a</i> | 8.61 (0.19) <i>abc</i> * | 1619 (59) <i>a</i> | 1248 (169) <i>abc</i> * |
| Unplanted-RC | 8.51 (0.11) <i>bcd</i> | 8.46 (0.10) <i>bc</i> | 1229 (79) <i>bd</i> | 1176 (9) <i>abc</i> |
| Control-RC | 8.61 (0.17) <i>cde</i> | 8.90 (0.06) <i>acd</i> | 1285 (123) <i>bd</i> | 1324 (6) <i>abc</i> |
| Unplanted-Sdt | 7.71 (0.04) <i>b</i> | 8.09 (0.55) <i>b</i> | 624 (25) <i>c</i> | 921 (394) <i>bc</i> |
| Control-Sdt | 7.96 (0.50) <i>bd</i> | 8.12 (0.04) <i>b</i> | 732 (132) <i>bc</i> | 805 (15) <i>c</i> |

To evaluate the beta diversity to compare between ecosystems, measured as the amount of species change, Principal Coordinate Analysis (PCoA) was performed using the Bray-Curtis index (based on abundance of taxa) (Figure 3.38). The three axes explained 71.89 % of the differences. Beta-diversity analysis revealed significant differences in bacterial community structure between the three substrates at T0 and T30 (PERMANOVA p-value < 0.001), and they were well separated in the PCoA plots. The distances based on the Bray-Curtis index were 0.66 (34 % similarities) between sand and RC, 0.86 (14 % similarities) between RC and sediment and 0.74 (26 % similarities) between sand and sediment. This suggested that the bacterial communities of sand and RC were significantly more similar to each other than to sediment and the main factor affecting beta diversity was the substrate. The presence of *P. australis* had an impact on beta diversity in sand and RC. Both substrates exhibited

significantly different communities between planted and unplanted conditions (PERMANOVA p-values < 0.02 for sand and < 0.004 for RC). Concerning OMP exposition, no significant differences were found between unplanted and control for sand and RC (p-values > 0.05) but a significant difference was observed for sediment (PERMANOVA p-value < 0.008). In summary, sand and RC mainly differed in their planted condition, showing more distinct bacterial communities compared to unplanted and control conditions. The distinction between sand and RC was more evident along Axis 2, while Axis 1 mainly explained the differences observed between sediment and the two other substrates.

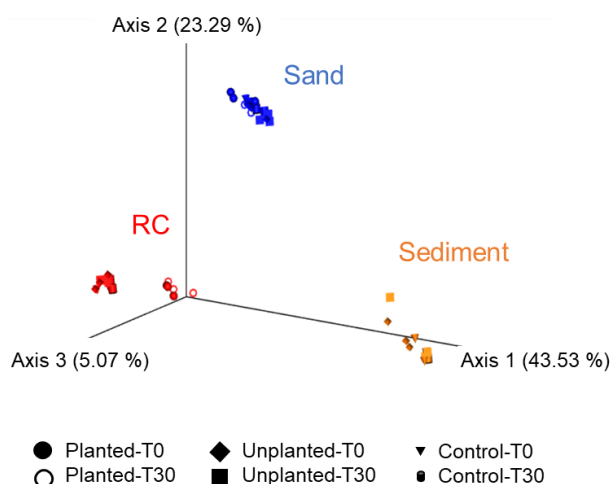
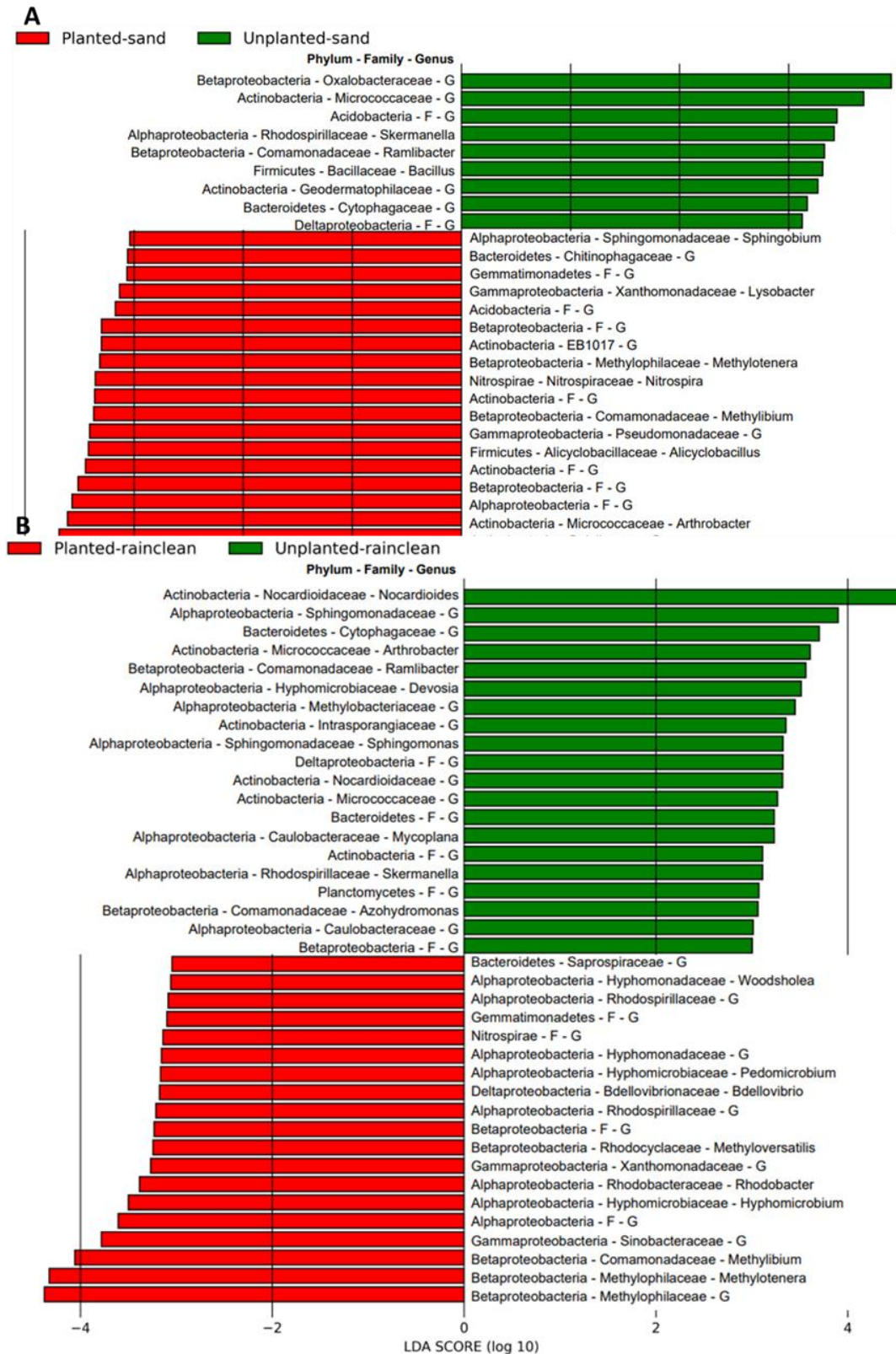


Figure 3.38: Principal coordinate analysis (PCoA) based on the Bray-Curtis distance (beta diversity) between sand, Rainclean (RC) and sediment of different modality and time. T0: initial time; T30: final time of the biodegradation experiment. Control corresponds to the unpolluted control.

A Z-score hierarchical clustering heat map representing the relative abundance of most abundant genera was conducted at the final time (T30) for all conditions and substrates (supplementary Figure 3.43). Only genera whose abundance was greater than 1 % were selected, their sum representing between 62 and 74 % of the total abundance (supplementary Table 3.32). Among these genera, 36% of taxa could be identified up to genus. In sand, the 10 most abundant genera were *Skermanella*, unidentified genera 5 (G5, from the *Sphingomonadaceae* family), G8 (*Comamonadaceae*), G9 (*Oxalobacteraceae*), G11 (unidentified family, Betaproteobacteria), *Pseudomonas*, G19 (*Sinobacteraceae*), G20 (*Xanthomonadaceae*), *Nocardioides* and G27 (*Gaiellaceae*). In RC it was *Rhodoplanes*, G3 (Alphaproteobacteria), G5 (*Sphingomonadaceae*), G8 (*Comamonadaceae*), G11 (Betaproteobacteria), *Methylotenera*, G13 (*Methylophilaceae*), G15 (Betaproteobacteria), *Nocardioides* and G27 (*Gaiellaceae*). Finally in sediment the 10 most abundant genera were *Skermanella*, G8 (*Comamonadaceae*), G9 (*Oxalobacteraceae*), G18 (*Enterobacteriaceae*), G23 (*Intrasporangiaceae*), *Nocardioides*, G28 (Actinobacteria), *Chryseobacterium*, G30 (*Weeksellaceae*) and *Fusibacter*. The hierarchical clustering revealed that the three substrates had different bacterial communities and that the communities of planted sand and RC were more different than those in unplanted conditions (unplanted and control) (supplementary Figure 3.43). Then, to assess the differences between planted and unplanted conditions and between polluted (unplanted) and unpolluted conditions (control), LEfSe analyses were conducted to detect differentially abundant bacterial taxa at the end of exposure (T30), for each substrate (Figure 3.39). The results highlight taxa with significantly higher abundance in one condition compared to the other (KW p-values < 0.05) for sand and RC. Comparing planted and unplanted conditions, 35 and 58 indicator bacterial taxa were found in sand and 39 and 60 indicator bacterial taxa were found in RC for both conditions respectively (supplementary Figure 3.44, LDA score > 2). Among the taxa with an LDA score above 3 (Figure 3.39A and B), 7 genera were fully identified (*Sphingobium*, *Lysobacter*, *Methylotenera*, *Nitrospira*, *Methylibium*, *Alicyclobacillus* et *Arthrobacter*) in planted sand and 8 genera (*Woodsholea*, *Pedomicrobium*, *Bdellovibrio*, *Methyloversatilis*, *Rhodobacter*, *Hyphomicrobium*, *Methylibium* and *Methylotenera*) in planted RC. Comparing polluted and unpolluted conditions, no significant differences in bacterial taxon abundance were found between the two (KW p-values > 0.05). Thus, sand, RC and sediment didn't revealed significant indicator bacterial taxa when polluted with the three OMP but in the

presence of *P. australis*, bacterial communities significantly changed in sand and RC at the level of genera.

Figure 3.39: LEfSe analysis of the different substrates according to conditions, represented by histograms of LDA scores of 16S gene sequences. Only taxa that have been identified to at least the order and with a LDA score (log10) above 3 (significant with a p-value < 0.05, Kruskal-Wallis's tests) are shown for better visibility. A: Comparison of planted and unplanted sand at T30. B: Comparison of planted and unplanted RC at T30. When identification couldn't reach family of genus level, unknown taxa have been replaced by "F" and "G".



XII.4. Discussion

To better treat road runoff contaminated with pollutants and particularly the Organic MicroPollutants (OMP), it is necessary to understand the fate of pollutants once they are retained in the biofiltration device substrates to better manage them over time (*LeFevre, 2012 ; Molle et al., 2013 ; Leroy et al., 2015*). The role of microorganisms and plants of RBF in the fate of OMP is still little studied. For this purpose, we evaluated the biodegradation of three emerging OMP, the BPA, 4-OP and 4-NP in planted (*P. australis*) and unplanted columns.

XII.4.1. The (bio)degradation and residues of OMP in substrates

The initial spiked contents in the columns were in the order of $\mu\text{g/g}$ an order of magnitude lower than in the most similar degradation studies (*Hseu, 2006; Shibata and al., 2006; Chang et al., 2007; Kuzikova et al., 2019; Toyama et al., 2009*). The results obtained for non-sterile substrates showed that 68.0 to 92.5 % of total degradation was due to biotic degradation. This confirms that OMP degradation was mainly due to microorganism's activity, which is in accordance with previous studies (*Toyama et al., 2011; Ying and Kookana, 2005; Chang et al., 2007; Kuzikova et al., 2019; Xu et al., 2009*).

In the literature, most of the studies used agricultural soil for the experiments (also sewage sludge or sediment from rivers) and to our knowledge, no article has studied OMP degradation in stormwater RBF. Summarizing the data available in the literature, DT50 values of BPA range from 0.81 to 8.7 days with an average at 4.6 days (*Xu et al., 2009; Ying and Kookana, 2005; Langdon et al., 2011; Li et al., 2013*), DT50 values of 4-NP range from 4.6 to 25 days with an average at 12.3 days (*Ying and Kookana, 2005; Hseu 2006; Chang et al., 2007; Sjostrom et al., 2008; Brown et al., 2009; Langdon et al., 2011*) and DT50 values of 4-OP range from 5 to 19.3 days with an average of 11.2 days (*Ying and Kookana, 2005; Shibata et al., 2006; Langdon et al., 2011*). Thus, DT50 of BPA of this study were close to those from the literature, with lower values than the literature average for sand and RC (2.3 to 4.1 days). However, sediment showed a very high DT50 compared to the literature (21.7 days). For 4-NP and 4-OP, results showed DT50 in the low range of the literature for all three substrates (2.6 to 5.1 days for 4-NP and 1.7 to 6.8 days for 4-OP) except for unplanted sand, where values were close to the literature mean (15.6 and 13.6 days for 4-NP and 4-OP). The 4-OP showed the highest DT50, which is consistent with the observations of other authors when 4-NP and 4-OP were evaluated in the same study (*Shibata et al., 2006; Ying and Kookana, 2005*) and BPA was the most degradable compound (except in sediment) in this study, which was consistent with the literature. The lower values than those reported in the literature can be explained firstly by the lower levels of OMP in the spiked substrates. But microbial communities of substrates have already been in contact with these OMP through runoff water contrary to the literature. Previous contact between OMP and the RBF autochthonous microorganisms could lead to their adaptation over time, resulting in these lower DT50. Indeed, disturbance of an environment (e.g., input of pollutants) can cause adaptation and resistance of disturbed communities over time (*Griffiths and Philippot, 2013; Mattana et al., 2019*).

However, OMP could not be completely degraded in the different substrates. Residues of OMP, recalcitrant to further degradation, were observed in the different substrates and conditions at different levels. They could persist in these substrates in the long term. OMP residues were also reported by other authors (*Langdon et al., 2011; Sjostrom et al., 2008, Kuzikuva et al., 2019*) while others did not show any residual phase (*Hseu 2006; Ying and Kookana, 2005; Shibata et al., 2006*). The authors who did find evidence of a residual phase were generally those who did not use first order kinetics to represent the kinetics, but rather bi-phasic kinetics. These results highlighted the role of substrates on the strong retention of OMP, preventing their degradation. Indeed, RC and sediment presented higher residual contents at the end of kinetics than sand for the three OMP, which can be directly linked to their intrinsic physicochemical properties: both contained more fine and reactive particles and more organic carbon which favorize strong adsorptions of the organic pollutants, which are in return less available than in sand (*Haigh, 1996*). *Boutrup et al. (2008)* showed that 4-NP and 4-OP can accumulate and persists in environmental media characterized by high organic content. Mostly, it is the strong sorption of the pollutants and not the microbial activity that limits the total biodegradation (*Soares et al., 2008*). Thus, initial fast kinetics (rapid degradation and lag phase when present) were related to the

microorganism's activity while final kinetics (slow to very slow degradation) were linked to substrate properties.

Sediment showed very little degradation of BPA unlike 4-NP and 4-OP. A previous study (Toyama *et al.*, 2009) had shown that in the absence of *P. australis*, degradation of this compound in sediment was low, only 21 % was degraded in 42 days, with a large residual phase remaining against 90 % in planted condition. Their hypothesis was a lower oxygenation of sediment without *P. australis*. However, they had also shown (Toyama *et al.*, 2011) the same effect for 4-NP and 4-OP, with little degradation in the absence of plants (9.2 % of 4-NP degraded). The difference of degradation of BPA and alkylphenol in sediment can't be explained at this level, especially since the adsorption coefficient of 4-NP and 4-OP are higher than BPA. Concerning sand, a lag phase was always observed for 4-NP and 4-OP contrary to other substrates (except 4-OP in sediment) indicating that microorganisms could not directly degrade the pollutants present.

Moreover, the results revealed that in planted condition, significant less residual phase was observed for the three OMP and for both sand and RC than under unplanted condition, except for 4-OP in RC which showed similar residual contents. These data clearly establish an enhancement of biodegradation in the rhizosphere of *P. australis* by increasing the final percentages of degradation. Thus, one of the roles of *P. australis* was to limit the formation of residual phase. Tong *et al.* (2021) also observed higher residual BPA in unplanted conditions than in planted after 28 days. In addition, concerning sand, the presence of *P. australis* had a real impact on the degradation rates of 4-OP and 4-NP since the half-life times decreased from 15.63 and 13.63 days in unplanted condition to 4.35 and 6.81 in planted condition for 4-NP and 4-OP respectively. Toyama *et al.* (2011) showed that the presence of *P. australis* favored the degradation of alkylphenols, notably through the production of enzymes by the reed roots or the good oxygenation of the rhizosphere, two parameters that can enhance microbial activity. Concerning BPA, the presence of *P. australis* did not strongly impact its degradation in sand. De la Paz (2019) also showed that BPA was not affected by the presence of *P. australis* unlike other OMP studied in planted or unplanted sand columns, because of its high biodegradability. On the other side, the effect of *P. australis* on degradation rates of OMP in the RC was not demonstrated, they were similar regardless of condition. Thus, another role of the presence of *P. australis* was to increase the degradation rates of alkylphenols in sand only.

Finally, even if these three substrates had different physicochemical properties, degradation rates were similar and similar (except for the unplanted sand for 4-OP and 4-NP and the sediment for BPA), a clear difference was observed at the OMP residue level. This similar degradation potential could be explained by their microbial communities.

XII.4.2. Ability of microbial communities to biodegrade the OMP

XII.4.2.1. Different microbial communities in the three substrates...

The results of functional diversity (Biolog Ecoplates), total enzymatic activity and bacterial genetic diversity presented showed that the three substrates were composed of different microbial communities (Figure 3.36, Figure 3.38, Table 3.27). Indeed, the values were strongly separated according to the nature of the substrate (sand, RC and sediment), with higher enzymatic and AWCD values in sediment, and higher alpha diversity in sand and RC. Overall, sand and RC had closer values of the various measures than sediment, indicating closer microbial communities, which can be seen in the beta-diversity and genera present. The hypothesis is that sediment is a more complex matrix, more organic, richer in fine particles and more contaminated than sand and RC, thus hosting more distant and active communities. Moreover, sediment's finer granulometry has a greater capacity to protect microbial communities thanks to a sorbent environment with a high exchange surface allowing fine interactions between microorganisms and their decomposition products (Truu *et al.*, 2009). The low genetic diversity of the sediment (alpha diversity) has already been shown in the sediment of a RBF treating acid mine drainage (Nicomrat *et al.*, 2008). However, although the sediment's genetic diversity was low, its functional diversity and enzymatic activity were very high, demonstrating the ability of this microbial community to degrade a wide range of organic compounds despite a lower diversity of organisms.

At phylum level (Figure 3.37), Proteobacteria and Actinobacteria dominated in all three substrates. In natural soils, Proteobacteria followed by Acidobacteria and Actinobacteria are generally dominant

(Janssen, 2006) and in stormwater RBFs (horizontal flow), Geronimo et al. (2022) showed the same phyla order in sand. In the present study, Acidobacteria were low in abundance (0.5 to 2.6 %) in all three substrates, in contrast to the literature. The addition of pollutants, particularly organic pollutants to the RBF could increase the availability of carbon sources, thereby limiting the growth of Acidobacteria, which are adapted to low availability (Naether et al., 2012). Finally, the sediment also showed higher abundances of Firmicutes and Bacteroidetes than the sand and RC. High Bacteroidetes abundances have previously been reported in sediments from stormwater management systems (Badin et al., 2012) and RBF for the treatment of various wastewaters (Sánchez et al., 2017; Desta et al., 2014). This phylum is known for its ability to degrade complex organic compounds such as aromatic compounds (Desta et al., 2014), which are also more concentrated in sediment than in sand and Rc (data not shown). Their higher abundance in sediment could thus be explained by its greater contamination. In other studies, Firmicutes have also been strongly found in FBR sediments for wastewater treatment (Desta et al., 2014). This phylum contains bacteria considered copiotroph (fast-growing in a carbon-rich environment), which is the case in sediment, and with a strong involvement in organic matter degradation (Zhalnina et al., 2014). Microbial communities at phyla level therefore showed similarities between the studies, but the orders and abundances were not the same. Indeed, communities vary according to the type of stormwater management system, the type of water received, the type of soil or substrate, operational parameters and the environment (Truu et al., 2009), which complicates the generalization of observations.

XII.4.2.2. ...But all able to biodegrade the three OMP...

Although the three substrates were all different in terms of physicochemical and microbiological properties, this study showed that they were all capable of degrading OMP at comparable times, except for BPA in the sediment and alkylphenols (4-NP, 4-OP) in the unplanted sand. Thus, different microbial communities induced comparable DT50s between substrates, which is interesting for understanding the operation of stormwater RBFs. To our knowledge, this is the first study to investigate the degradation of compounds in different solid media of the same RBF.

In the unplanted condition, the microbial communities in the sand degraded the compounds more slowly than the RC, with a lag phase for 4-NP and 4-OP before degradation. Thus, its microbial communities were less stimulated to biodegrade in the absence of *P. australis*. This highly inert and inorganic substrate, not favorable to microbial development, nevertheless has promising degradation capacities when planted. Afzal et al. (2011) also revealed lower degradation rates in the sandiest soils, and de la Paz et al., (2019) showed that sand planted with *P. australis* increased the attenuation of various OMP compared to unplanted sand. As for RC, this industrial, complex and heterogeneous substrate was colonized by microorganisms over time, whose composition enabled rapid degradation of OMP regardless of whether it was planted or not. This is the first study to show the capacity of this substrate to degrade OMP, and the results are encouraging. Finally, the sediment showed a strong capacity to degrade 4-NP and 4-OP but not BPA. At this level of analysis, it is not possible to hypothesize why.

XII.4.2.3. ...Which can be partially explained by the presence of OMP-degrading bacteria in substrates...

The z-score heatmap (Figure 3.43) highlighted bacterial genera with an abundance >1 %. In each substrate, some have already been described as having the ability to degrade the OMP studied (OMPs-degrading bacteria). In the literature, in solid media, the genera *Sphingomonas* (Zhang et al., 2016b; Im et al., 2016; Sarma et al., 2019; Matsumura et al., 2009), *Pseudomonas* (Zhang et al., 2016b; Im et al., 2016; Sarma et al., 2019; Matsumura et al., 2009; Tong et al., 2021), *Bacillus* (Im et al., 2016, Sarma et al., 2019; Matsumura et al., 2009), *Arthrobacter* (Im et al., 2016) and *Rhodococcus* (Tian et al., 2022) have been (among others) identified as capable of degrading BPA. For 4-NP, the genera *Arthrobacter* (Corvini et al., 2006; Zhang et al., 2016b), *Bacillus* (Corvini et al., 2006; Zhang et al., 2016b; Wang et al., 2015b; Ma et al., 2016), *Pseudomonas* (Corvini et al., 2006; Zhang et al., 2016b; Soares et al., 2003; Wang et al., 2015b; Shi et al., 2022; Ma et al., 2016), *Sphingomonas* (Corvini et al., 2006; Zhang et al., 2016b; Wang et al., 2015b; Shi et al., 2022; Ma et al., 2016), *Acinetobacter* (Corvini et al., 2006) and *Hyphomicrobium* (Ma et al., 2016) have been identified. Finally, for 4-OP, the genus *Bacillus* has been identified (Liu et al., 2018), this being the least studied OMP. These different genera are found in our various substrates at abundances >1 %. In sand (all conditions combined), 5 OMP-degrading bacteria were present: *Hyphomicrobium*, *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* and *Rhodococcus*. In the

RC, 4 OMP-degrading bacteria were present: *Hyphomicrobium*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* and *Rhodococcus*. In the sediment, 3 OMP-degrading bacteria were present: *Acinetobacter*, *Pseudomonas* and *Bacillus*. In addition to OMP-degrading bacteria, certain bacterial genera presumed capable of degrading OMP have also been identified. The *Methylibium* genus, found in abundance >1 % in sand and RC, is presumed to be capable of degrading 4-NP (Kane et al., 2017), while the *Methylothera* genus found only in RC is presumed to be capable of degrading 4-NP (Montenegro et al., 2021).

Families known to be involved in the degradation of the OMP studied were also found at abundances >1 % in the three substrates when identification could not go as far as the genus (Figure 3.43). In other solid media, literature revealed that the families *Sphingomonadaceae*, *Comamonadaceae* and *Enterobacteriaceae* have populations that can degrade BPA (Oh et al., 2019; Cai et al., 2016; Zhang et al., 2016b), the families *Sphingomonadaceae*, *Comamonadaceae*, *Methylophilaceae*, *Xanthomonadaceae* and *Micrococcaceae* can degrade 4-NP (Xu et al., 2018; Cai et al., 2016; Zhang 2016b; Montenegro et al., 2021) and the family *Methylophilaceae* can degrade 4-OP (Montenegro et al., 2021). In the sand, unidentified genera belonging to the families *Sphingomonadaceae* (G5), *Comamonadaceae* (G8), *Methylophilaceae* (G13), *Xanthomonadaceae* (G20) and *Micrococcaceae* (G25) were found. In the RC, genera belonging to the families *Sphingomonadaceae* (G5), *Comamonadaceae* (G8) and *Methylophilaceae* (G13) were found. In sediment genera belonging to the families *Comamonadaceae* (G8), *Methylophilaceae* (G13), *Enterobacteriaceae* (G18), *Xanthomonadaceae* (G20) and *Micrococcaceae* (G25) were found. These unidentified taxa belonging to these families could therefore also play a role in the biodegradation of OMP. In addition to these families, the sand and especially the sediment contained an unidentified genus belonging to the *Oxalobacteraceae* family (G9); Song et al. (2015) and Chen et al. (2023) showed their role in the degradation of benzo-a-pyrene and Huang et al. (2023) showed their role in the degradation of phthalate in soils. Bacteria from this family could therefore also play a role in the degradation of the OMP in the present study.

In sand (all conditions), the OMP-degrading genus *Pseudomonas* was the most abundant (between 2 and 2.3 %), while it was the genus *Methylothera* in Rc (between 1 and 6.8%), and in sediment, the abundances of OMP-degrading genus were more homogeneous (supplementary Table 3.32). For unidentified genera, the families *Sphingomonadaceae* (G5, 5.7 to 6.4 %), *Methylophilaceae* (G13, 1.2 to 10.2 %) and *Oxalobacteraceae* (G9, 14.8 to 18.7 %) were the most abundant in sand, RC and sediment respectively (supplementary Table 3.32). Most of the genera and families identified as being capable of degrading OMP belong to the Proteobacteria, and more specifically to the Alpha-, Beta- and Gammaproteobacteria. This phylum is a metabolically diverse group, considered to be copiotrophs with a strong involvement in the degradation of organic matters (Aislabie et al., 2013; Zhahnina et al., 2014). Being most often the dominant phyla in soils (Janssen 2006; Aislabie et al., 2013), the probability of having taxa able to degrade OMP is higher. The presence of these different bacterial taxa in the three substrates (identified down to genus or family), known to have the ability to degrade the OMP studied, would therefore explain the rapid degradation of OMP during the experiment. And even if the bacterial genera differed between substrates, the OMP-degrading bacteria were sufficiently active to allow this degradation. Finally, sediment contained a lower diversity of bacterial taxa in abundances above 1 % identified as being able to degrade OMP than sand and RC.

XII.4.2.4. ...Already present in the autochthonous microbial communities of RBF substrates.

Many of the genera presented above were found in the controls, corresponding to substrates without artificial OMP exposition. In the control sand, the genera *Hyphomicrobium*, *Sphingomonas* and *Arthrobacter* were present in abundance above 1%, in the RC it was the genera *Hyphomicrobium* and *Methylothera* and in the sediment *Bacillus* and *Acinetobacter* (supplementary Figure 3.43). Unidentified genera belonging to families known to have OMP-degrading populations were also found. In the control sand, unknown genera belonging to the families *Sphingomonadaceae* (G5), *Comamonadaceae* (G8), *Oxalobacteraceae* (G9), *Xanthomonadaceae* (G20) and *Micrococcaceae* (G25) were found. In the control RC, unknown genera belonging to the families *Sphingomonadaceae* (G5), *Comamonadaceae* (G8) and *Methylophilaceae* (G13) were found, and in the control sediment, *Comamonadaceae* (G8), *Oxalobacteraceae* (G9), *Enterobacteriaceae* (G18) and *Micrococcaceae* (G25) were found.

These results suggest that the three substrates, without artificial addition of OMP, already contained bacterial taxa identified as having the capacity to degrade these OMP, at percentages greater than 1 %. It can be explained by the adaptation of bacterial communities to the frequent addition of OMP by road runoff into RBF's substrates (Griffiths and Philippot, 2013). Changes in environmental conditions would favor some bacterial populations over others; in our case, the input of pollutants into a system (RBF) would therefore cause changes in microbial populations due to changes in food resources and potential inhibitory factors (Van Der Meer, 2006). Biodegradation of OMP would therefore involve an increase in the size of bacterial populations capable of degradation to the benefit of other populations (Van Der Meer, 2006; Boonnorat et al., 2014; Oh et al., 2019).

XII.4.3. The effect of OMP and *P. australis* exposure on microbial communities

XII.4.3.1. Exposure to OMP had minimal impact on microbial communities.

Exposure to OMP (unplanted sand and RC) induced some changes in the microbial communities of sand and RC compared with the control (unpolluted). Total enzyme activity (Figure 3.36) was significantly lower at T0 for sand and RC, demonstrating a drop in activity after 5 h of exposure to OMP as opposed to the unpolluted control. Over time, both sand and RC recovered their enzymatic activity, even exceeding that of the control for RC, indicating an adaptation of the communities to OMP, or even a beneficial effect of OMP for RC. However, activity in sand was low compared with organic soils or sediments (Mkhinini et al., 2020; Kumar et al., 2019) due to its low carbon content and water retention capacity (Gispert et al., 2013). Despite its high carbon content, RC showed even lower enzymatic activity, probably due to its high carbon/nitrogen ratio (Girard et al., 2011) and industrial nature. Functional diversity (EcoPlates) showed a significant increase in the indexes measured in the presence of OMP in the sand at T0 and T30, in contrast to RC (Table 3.27). Thus, the presence of OMP in the sand led to an increase in its metabolic diversity, which can be explained by the addition of organic carbon to an initially poor and inert substrate, unlike RC, which is naturally rich in organic carbon. Tiquia et al., 2010 also demonstrated higher metabolic diversity (by Ecoplates) in waters more impacted by anthropogenic pollutants, notably because more dissolved organic carbon was present. In contrast, bacterial genetic diversity was only slightly affected by the presence of OMP in sand and RC. Few significant differences were observed between the two conditions in terms of phyla, and none in terms of alpha and beta diversity (Table 3.28). Furthermore, LEfSe analysis revealed no significant variation in the abundance of microbial taxa, including OMP-degrading bacteria. These genetic diversity results suggest that exposure to OMP did not significantly affect the structure or abundance of sand and RC bacterial communities. To understand the relationship between degradation results, physicochemical and microbiological properties, a principal component analysis (PCA) was carried out for each substrate (Figure 3.40). The first two principal component axis explained 83.1 % and 80.7 % of the data variability between samples for sand and RC respectively. The substrates physicochemical parameters didn't impact the PCA result, they were withdrawn. Comparing only the control and the unplanted condition, these two groups of samples did not overlap and were distinct along axis 2 for sand and RC. For the sand, the control was associated with high values of total enzyme activity and Shannon diversity index, as well as with OMP-degrading bacteria of the genus *Rhizobium* (identified for their ability to degrade 4-NP, Zhang et al., 2016b; Wang et al., 2015b). The unplanted condition, on the other hand, was associated with OMP-degrading bacteria of the genera *Bacillus* and *Sphingomonas*. For RC, the control condition was associated with a higher Shannon index and OMP-degrading bacteria of the genera *Rhizobium* and *Nitrosomonas* (identified for their ability to degrade 4-NP, Im et al., 2016), while the unplanted condition was associated with *Sphingomonas* and *Arthrobacter*. These differences in microbiological parameters explained the differences between these two conditions on the PCA. Although the LEfSe analysis did not reveal any significant differences, the PCA showed that exposure to OMP had an impact on certain biological parameters and bacterial genera.

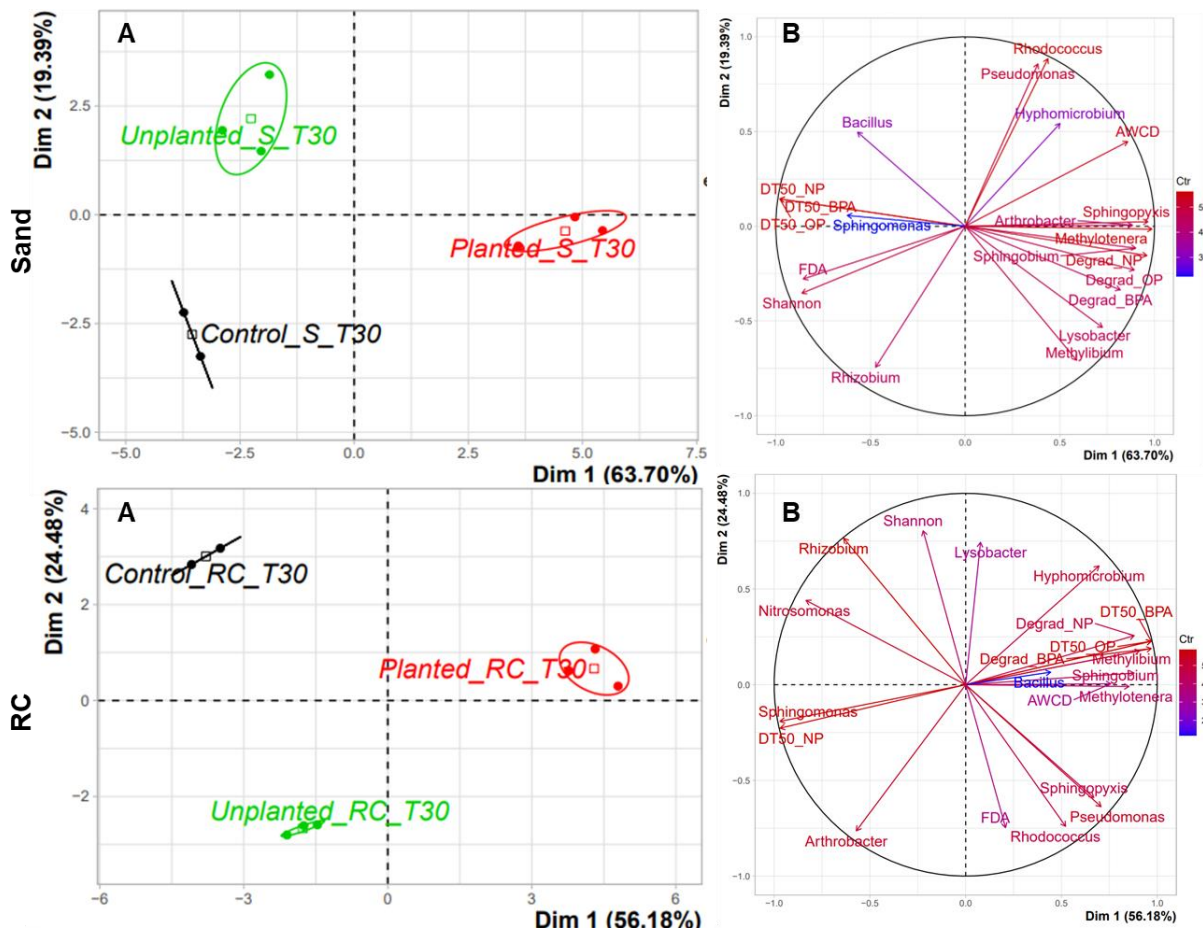


Figure 3.40: Principal component analysis (PCA) at the end (T30) of degradation kinetics for sand and RC. **A:** projection of data set variability plotted on a factorial map of the first two discriminating axes according to substrates and their conditions. S. sand, RC: Rainclean. Ellipses represent confidence intervals (95 %) and control corresponds to the unpolluted control **B:** correlation circles plot with variable vectors (OMPs-degrading genera, Shannon index, total enzymatic activity, AWCD, DT50 and percentages of degradation) for each respective factor. Variables are colored according to their contribution and if it was < 1, they were withdrawn. As the sediment is not well separated under these conditions, it is not shown.

Sediment showed the least impact of OMP on microbial communities. Total enzyme activity and functional diversity remained similar to those of the control (no significant difference). Although there were significant differences at phyla level, alpha and beta diversity remained similar, and LEfSe analysis identified no taxa significantly different from the control. Furthermore, the PCAs performed failed to clearly separate the sediment control from the unplanted condition (overlapping ellipses). This suggests that there was no impact of pollutants on autochthonous microbial communities in the sediment (PCA not shown), probably because this substrate was naturally more contaminated than sand and RC but also because OMP were less bioavailable. Sediment microbial populations appear to be more acclimatized to these levels of contamination, thus limiting changes in activities and populations (notably of OMP degrading bacteria) during OMP degradation.

This study therefore revealed that the presence of OMP did not significantly alter the abundances of OMP-degrading bacteria. However, other authors have observed an increase in these bacteria when exposed to OMP, suggesting the selection of populations acclimatized to OMP or capable of using OMP as a carbon source (Montenegro et al., 2021; Wang et al., 2015b; Oh et al., 2019; Tong et al., 2021). Some studies have also highlighted the impact of OMP concentration on changes in microbial communities. For example, Mattana et al. (2019) showed that the effect of 4-NP on soil microbial communities was notable from 270 mg/kg (change in communities) while Domene et al., (2010) observed the same effect at 270 mg/kg and that below 90 mg/kg, communities were not impacted (no change). In the present study, the levels used in the columns were lower (0.086 to 2.34 mg/kg), which could explain the lack of change in bacterial communities during OMP degradation. However, even if

microbial communities were not altered by the addition of OMP, degradation rates were on average faster than those reported in the literature (except for alkylphenols for unplanted sand and BPA for sediment). This suggests that, at these levels, the microbial communities present were sufficiently acclimatized and that the OMP-degrading bacteria naturally present in these substrates played a role in the biodegradation of OMP. *Ferro Orozco et al. (2013)* also showed that activated sludge acclimatized to BPA showed higher degradation rates than unexposed sludge. However, in unplanted sand, the microbial population was less efficient at degrading 4-NP and 4-OP, indicating a lower degradation capacity in this highly inorganic substrate. It is possible that this metabolic limitation is due to the nature of the substrate (*Gispert et al., 2013*).

XII.4.3.2. Exposure to *P. australis* had a greater impact on microbial communities.

The 44-day study is relatively short to fully observe the impact of vegetation. In addition, total homogenization of the columns was carried out to monitor total OMP content, which could lead to a dilution effect of the rhizospheric effect. Despite, the presence of *P. australis* had a greater impact on the microbial communities of sand and RC than exposure to OMP. The PCA presented in Figure 3.40 revealed that, after the nature of the substrate (Figure 3.35), the planted condition was the second most important differentiating factor between the different conditions. Samples from this condition were clearly separated from the others and axis 1 of the PCA largely explained the differences between the planted condition and the other conditions.

The presence of vegetation can stimulate microbial activities by producing root exudates such as amino acids, carbohydrates and flavonoids (*Chen et al., 2016; de la Paz et al., 2019; Swiontek Brzezinska et al., 2014*). However, in this study, the plant did not lead to higher total enzyme activity in either sand or RC. For both substrates, it was even lower in the presence of *P. australis*. In contrast, functional diversity showed greater functional richness and higher degradation intensity (AWCD) for sand and RC throughout the kinetics. In particular, the carbohydrate, amino acid and carboxylic acid families were more strongly degraded under planted conditions (data not shown). These families are notably composed of 4-hydroxy benzoic acid, xylose, and arginine, which are root exudates of *P. australis* (*A et al., 2017*) that may then explain these results. Similar observations were made by *A et al. (2017)* and *Sun et al. (2010)*; the diversity and degradation intensity of Ecoplates were greater under planted conditions and were linked to the production of root exudates in the soil, stimulating microbial activity and modifying community structure. Consequently, the presence of *P. australis* increased the metabolic diversity of sand and RC, although this did not result in an increase in measured enzyme activity.

In terms of genetic diversity, the microbial communities of the sand and RC were significantly different between the planted condition and the other two as early as the initial time T0 (Figure 3.38 and Figure 3.40), but also at the final time T30 (Figure 3.38, Figure 3.39 and Figure 3.40). The presence of *P. australis* thus induced changes in bacterial communities as early as 14 days of pre-incubation, but also after 30 days of incubation. In the sand, these changes were visible by LEfSe analysis; the presence of vegetation induced a higher number of OMP-degrading bacteria in significantly higher abundance than in the unplanted condition (supplementary Figure 3.44). Indeed, the genera *Lutibacterium* (most likely linked to BPA degradation, *Tong et al., 2021*), *Sphingopyxis* (able to degrade BPA, *Zhang et al., 2016b; Oh et al., 2019*), *Acidovorax* (linked to 4-NP degradation, *Wang et al., 2015b; Watanabe et al., 2012*), *Sphingobium* (linked to 4-NP, 4-OP and BPA degradation, *Corvini et al., 2006; Zhang et al., 2016b; Toyama et al., 2011; Oh et al., 2019*), *Lysobacter* (linked to 4-NP degradation, *Shi et al., 2022; Cheng et al., 2017*), *Methylothera*, *Methylibium* and *Arthrobacter* and unknown genera belonging to the families *Pseudomonadaceae* and *Comamonadaceae* were significantly more abundant in the planted condition than the unplanted one, i.e. 10 taxa. In comparison, the unplanted condition showed higher abundances for the *Bacillus* genus and unknown genera belonging to the *Nitrosomonadaceae*, *Burkholderiaceae* (family related to 4-NP and 4-OP degradation, *Cai et al., 2016; Zhang et al., 2016b*) *Micrococcaceae* and *Oxalobacteraceae* families, i.e 5 taxa. Considering taxa with an LDA score > 3 (Figure 3.39A), more taxa differentiated the planted condition and the majority were OMP-degrading bacteria (7 out of 19 taxa and 7 out of 8 identified genera). PCA (Figure 3.40) also revealed that the planted sand was correlated with functional diversity index (AWCD), and with the greater number of OMP-degrading bacteria found in the sand (*Sphingopyxis*, *Methylothera*, *Arthrobacter*, *Sphingobium*, *Lysobacter*, *Methylibium*). These differentially abundant taxa seem to explain the higher degradation rates of 4-NP and 4-OP and the reduced latency phase for 4-OP in the planted sand. The change in

bacterial community resulting from the selection of OMP-degrading bacteria due to the presence of *P. australis* played a direct role in the biodegradation of OMP in the sand columns. The presence of root exudates seems to explain this change in sand communities (Sun et al., 2010). Given that sand is an initially inert substrate, the addition of carbon sources through exudates stimulates bacterial activity, thereby promoting the degradation of OMP. Consequently, the presence of vegetation in RBF sand plays a crucial role in enhancing the degradation of OMP, as indicated by other authors in other systems (A et al., 2017; Sun et al., 2010; He et al., 2005; Toyama et al., 2009 and 2011; Li et al., 2014; Wu et al., 2019). An expected effect in sand is then the decrease in degradation rates with depth due to the lesser contribution of vegetation and oxygen depletion of the environment (Zhou et al., 2005). As a result, degradation kinetics are likely to be slower at greater depths (corresponding more to the unplanted condition), in contrast to the first centimeters of RBFs, where kinetics are likely to be faster.

In the RC, the LEfSe analysis also revealed differences in the abundances of bacterial genera (supplementary Figure 3.44B): the genera *Sphingobium*, *Flavobacterium* (very probably linked to the degradation of 4-NP, Wang et al., 2014; Cheng et al., 2017), *Acidovorax*, *Rhodobacter* (very probably linked to the degradation of 4-NP, Wang et al., 2014), *Hyphomicrobium*, *Methylibium* and *Methylotenera* and the unknown genera belonging to the families *Pseudomonadaceae*, *Xanthomonadaceae* and *Methylophilaceae* were significantly more abundant in planted condition (with an increasing score), i.e. 10 taxa. In comparison, the unplanted condition showed higher abundances for the genus *Novosphingobium* (linked to BPA degradation, Im et al., 2016; Tong et al., 2021; Oh et al., 2019), *Nitrosomonas*, *Sphingomonas* and *Arthrobacter* and unknown genera belonging to the *Micrococcaceae* and *Sphingomonadaceae* families i.e. 6 taxa. Considering taxa with an LDA score > 3 (Figure 3.39B), the same number of taxa differentiated the planted from unplanted condition and 6 taxa out of 19 were OMP-degrading bacteria compared to 4 out of 20 respectively. PCA (Figure 3.40) also revealed that the planted RC was correlated with functional diversity index (AWCD), and with the OMP-degrading bacteria *Methylibium*, *Sphingobium*, *Methylotenera*, *Hyphomicrobium*. However, contrary to sand, the OMP-degrading bacteria were not mainly correlated with the planted condition. The genus *Methylibium* and two genera belonging to the *Methylophilaceae* family (*Methylotenera* and an unknown genus) were very significant in the planted RC (LDA score > 4) indicating a strong impact of *P. australis* on the development of these bacterial genera belonging to the phylum Betaproteobacteria. Aislabie et al., 2013 highlighted that vegetation promoted the growth of Proteobacteria in rhizospheric environments. Kane et al., 2007 revealed the genus *Methylibium* could degrade a PAH, and they estimated that it could also degrade alkylphenols. Montenegro et al., 2021 also showed a strong increase in the genus *Methylotenera* in the presence of 4-NP and 4-OP. Thus, although these genera have not been explicitly described as being able to degrade alkylphenols, a hypothesis can be made regarding the stimulation of these genera by plants, allowing a degradation of OMP (increase in their abundance between T0 and T30, data not shown).

However, kinetic results revealed similar degradation rates between planted and unplanted conditions for RC, with no trend observed with the presence of *P. australis*. This indicates that the differences observed in bacterial communities did not have a significant impact on the degradation of OMP, unlike sand. The unplanted RC contained many OMP-degrading bacteria, different from those in the planted condition. It is possible that, in the absence of plants, the RC contained sufficient bacterial taxa different from those present in the planted condition but capable of degrading OMP, thus allowing sufficiently rapid biodegradation of OMP. In this substrate, the addition of vegetation did not play a major role in the degradation rates of OMP, unlike sand. Vegetation seems to have mainly influenced the residual phases of OMP, which were smaller in the presence of *P. australis*. However, specific mechanisms related to the plant itself were not explored in this study. To better understand the direct role of vegetation in the availability of OMP, for example what could explain further degradation in planted conditions, more in-depth investigations are necessary. Finally, it should be noted that this substrate is relatively new in the scientific literature, and no other author has studied the microbial communities and their role in this substrate, whether in the presence or absence of vegetation. The results of this study indicate a good potential for degradation of OMP by this substrate, whether in planted or unplanted conditions, thus paving the way for future research to deepen our understanding of these complex processes.

XII.5. Conclusion

This study is the first one to demonstrate the effectiveness of biodegradation of BPA, 4-NP and 4-OP in the context of RBF runoff treatment. Physicochemical differences between the three substrates resulted in the presence of distinct microbial communities (enzymatic activity, functional diversity and bacterial genetic diversity) in each substrate, particularly in the sediment. Despite these differences, the degradation capacity for the three OMP (DT50 and final percentage of degradation) was quite high compared to the literature. The RC reveals to degrade faster than sand, except in planted columns where the degradation of both substrates was comparable, which highlight the importance of *P. australis* to improve the (sand) degradation in RBF. It should be noted that the kinetic models adopted were rarely first order, but rather biphasic, highlighting the importance of the choice of the model. The first phase, characterized by a rapid decrease of OMP (with or without latency phase), was mainly related to microbial communities of substrates, while the second phase, marked by a very limited or no degradation, was influenced by the physicochemical properties of the substrates, impacting the retention of the pollutant and therefore its bioavailability.

Bacterial genetic diversity revealed that substrates were initially rich in OMP-degrading bacteria, indicating an adaptation of bacterial communities to contaminated runoff. Exposure to higher OMP contents during biodegradation kinetics resulted in only minimal changes in microbial communities, without significant differences in bacterial taxa for all substrates. This suggests that the bacterial populations were sufficiently diverse and active to allow rapid degradation of OMP, while maintaining their community structure. The presence of *P. australis* had a significant impact on sand and RC microbial communities, but the effect on kinetics was different. In sand we observed an increase in functional diversity and OMP-degrading bacteria leading to faster biodegradation kinetics. RC communities did not show significantly different capacities to degrade OMP. The atypical industrial substrate RC, which had never been studied before, was colonized over time by OMP-degrading bacteria, allowing rapid degradation rates regardless of the condition. In addition, the presence of vegetation led to a reduction in the residual phase of the OMP, particularly in RC.

These results are crucial because they indicate a low risk of OMP accumulation in filter substrates treating urban runoff due to their rapid degradation. However, sediment and unplanted RC showed residual OMP levels due to their adsorbent properties. The risk of long-term accumulation of OMP in these two substrates, should therefore be studied over longer period.

Author contribution: Julia Roux: conceptualization, investigations, chemical and microbiological analyses, visualization, writing and editing. Martin Sedl: fundraising, conceptualization, investigation, validation, review and editing. Narimane Chibane: investigations, chemical and microbiological analyses. Lila Boudahmane: chemical analyses. Emilie Caupos: chemical analyses. Vanessa Alfonse conceptualization and microbiological analysis. Mohamed Barakat: investigation, genetic analysis. Wafa Achouak: investigations, genetic analysis, review and editing. Alexandre Livet: microbiological analysis. Pascale Neveu: project administration, fundraising. Nouredine Bousserhine: project administration, investigation validation, review and editing.

Declaration of competing interest: The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Funding: This research was supported through the European Life Adsorb project (LIFE17 ENV/FR/000398).

Acknowledgements: Thanks to the PRAMMICS platform (OSU-EFLUVE UMS 3563) for the organic micro pollutant and enzymatic analytical capacity (SAFAS, UP-LC-MS/MS). Thanks to the LEMIRE Team of the BIAM laboratory for the DNA data processing. Thanks to the Paris municipality for the PhD fellowship contribution.

XII.6. References

The bibliographical references are directly accessible in the bibliographical references section of the manuscript.

XII.7. Supplementary Data

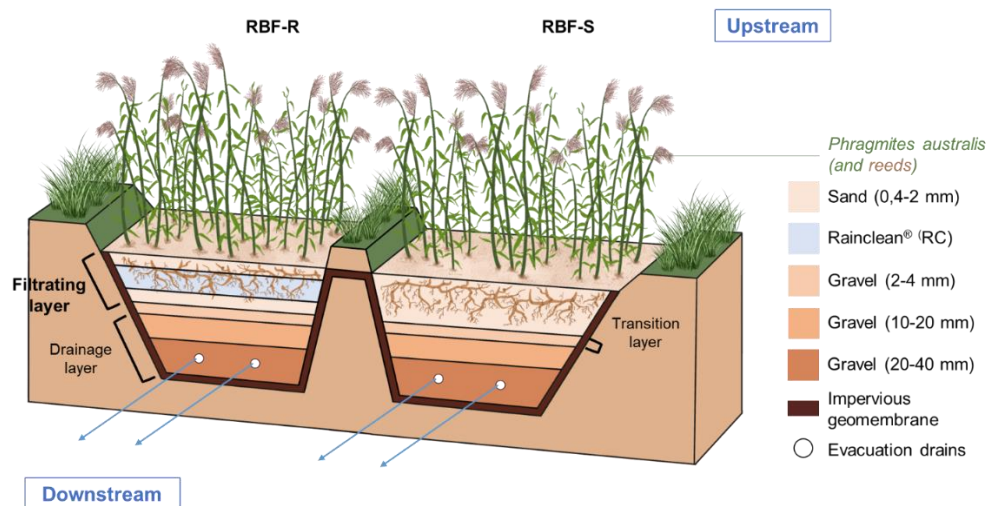


Figure 3.41 : Description of the reed bed filter.

Table 3.29: Structure and physicochemical properties of selected OMP. * According to ECHA database (ECHA 2023)

| Compound (IUPAC name) | Short form | Chemical formula | Structure | CAS | Molecular weight (g/mol) | Log Kow * | Solubility * (mg/L) |
|---|------------|--|-----------|------------|--------------------------|-----------|---------------------|
| Bisphenol A (4-[2-(4-hydroxyphenyl)propan-2-yl]phenol) | BPA | C ₁₅ H ₁₆ O ₂ | | 80-05-7 | 228.3 | 3.4 | 300 |
| 4-Nonylphenol (4-(7-methyloctyl)phenol) | 4-NP | C ₁₅ H ₂₄ O | | 84852-15-3 | 220.3 | 5.4 | 5.7 |
| 4-t-Octylphenol (4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenol) | 4-OP | C ₁₄ H ₂₂ O | | 140-66-9 | 206.3 | 4.8 | 7 |

Table 3.30 : Description of OMP analysis methodology. A: information concerning UPLC-MSMS. B: quantification limits of OMP. C: Extraction blanks contents.

A. Elution gradient of UPLC and MS-MS parameters.

| Temps (min) | 0 | 3 | 5 | 6 | 8 |
|-------------|-------|------|-------|-------|-------|
| % A/% B | 50/50 | 5/95 | 0/100 | 50/50 | 50/50 |

| Type | Compound | Retention time (min) | Electrospray Ionization (ESI) detection mode | Quantification Parent ion → daughter ion transitions (m/z) | Collision energy (eV) | Confirmation Parent ion → daughter ion transitions (m/z) | Collision energy (eV) | Cone voltages (eV) |
|-------------------------------|----------|----------------------|--|--|-----------------------|--|-----------------------|--------------------|
| Target compounds | BPA | 2.04 | ESI- | 226.9 → 133.1 | 22 | 226.9 → 212.2 | 25 | 38 |
| | 4-NP | 3.45 | ESI- | 219.1 → 147.1 | 28 | 219.1 → 133.1 | 26 | 42 |
| | 4-t-OP | 3.25 | ESI- | 205.1 → 133.9 | 18 | 205.2 → 133.2 | 30 | 45 |
| Internal extraction standards | BPA-d6 | 2.04 | ESI- | 233.2 → 215.2 | 18 | 233.2 → 138.2 | 30 | 38 |
| | NP1EO-d2 | 3.57 | ESI+ | 284.3 → 127.2 | 8 | 284.3 → 71.1 | 15 | 22 |
| | n-OP-d17 | 3.55 | ESI- | 222.3 → 108.1 | 23 | 222.3 → 122.2 | 36 | 48 |
| External extraction standards | BPA-d16 | 2.03 | ESI- | 241.3 → 223.2 | 22 | 241.3 → 142 | 25 | 38 |
| | 4-nNP | 3.76 | ESI- | 219.2 → 106.2 | 24 | - | - | 45 |

B. Quantification limits of OMP.

| Compound | LQ (ng injected) | LQ for 500 mg (µg/g substrate) |
|----------|------------------|--------------------------------|
| BPA | 0.0096 | 0.0019 |
| 4-NP | 0.0086 | 0.0017 |
| 4-t-OP | 0.0081 | 0.0016 |

C. Extraction blanks contents: mean (standard deviation) of 11 repetitions.

| Compound | Blank content (µg/g) |
|----------|----------------------|
| BPA | 0.0065 (0.0047) |
| 4-NP | 0.0408 (0.0270) |
| 4-t-OP | 0.0056 (0.0046) |

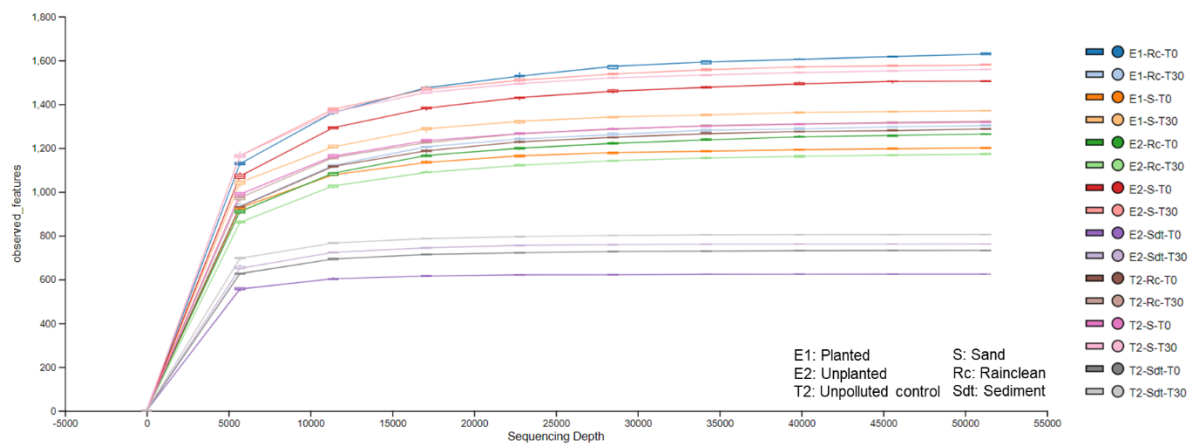


Figure 3.42 : Saturation of diversity after the rarefaction of sample sequences (normalization to the lower number of sequences in a sample).

Table 3.31: Relative abundance (%) of the most abundant bacterial phyla (>1 %) in sand, RC and sediment, according to modality (planted, unplanted and control) and time (initial, T0 and final, T30). Proteobacteria are divided in classes and bacterial phyla with an abundance of less than 1% are grouped in "other". Control corresponds to the unpolluted control.

| Sample | Alpha-proteobacteria | Gamma-proteobacteria | Delta-proteobacteria | Beta-proteobacteria | Other Proteobacteria | Actinobacteria | Gemmatimonadetes | Acidobacteria | Firmicutes | Bacteroidetes | Nitrospirae | Others |
|-------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|----------------|------------------|---------------|------------|---------------|-------------|--------|
| Planted-S-T0 | 26.4 | 18.5 | 2.5 | 15.5 | 0.0 | 23.0 | 3.0 | 1.3 | 1.9 | 5.4 | 1.3 | 1,2 |
| Planted-S-T30 | 25.4 | 10.9 | 4.4 | 17.1 | 0.0 | 25.5 | 4.3 | 2.5 | 2.1 | 5.0 | 1.4 | 1,4 |
| Unplanted-S-T0 | 27.7 | 12.5 | 5.2 | 16.6 | 0.0 | 22.5 | 2.8 | 1.2 | 1.7 | 7.9 | 0.8 | 1,1 |
| Unplanted-S-T30 | 25.9 | 10.1 | 6.0 | 16.0 | 0.0 | 24.6 | 4.4 | 2.6 | 2.5 | 5.6 | 1.1 | 1,2 |
| Control-S-T0 | 28.2 | 13.2 | 4.0 | 17.1 | 0.0 | 24.1 | 3.3 | 1.2 | 1.5 | 5.2 | 1.2 | 1,2 |
| Control-S-T30 | 26.2 | 8.8 | 6.4 | 17.6 | 0.0 | 22.1 | 5.6 | 2.6 | 1.8 | 5.7 | 1.7 | 1,5 |
| Planted-RC-T0 | 30.9 | 13.4 | 3.6 | 18.5 | 0.8 | 18.5 | 3.4 | 1.0 | 0.5 | 5.5 | 2.5 | 1,4 |
| Planted-RC-T30 | 24.8 | 7.5 | 3.9 | 37.2 | 0.6 | 14.6 | 3.4 | 0.9 | 0.5 | 4.2 | 1.4 | 0,9 |
| Unplanted-RC-T0 | 24.8 | 7.9 | 2.9 | 20.0 | 0.2 | 32.5 | 4.4 | 0.7 | 0.5 | 2.9 | 1.8 | 1,5 |
| Unplanted-RC-T30 | 24.4 | 5.4 | 4.7 | 30.7 | 0.2 | 22.1 | 4.4 | 1.0 | 0.5 | 4.4 | 1.0 | 1,3 |
| Control-RC-T0 | 25.2 | 8.6 | 2.9 | 18.6 | 0.2 | 32.7 | 4.1 | 0.7 | 0.6 | 3.0 | 1.9 | 1,5 |
| Control-RC-T30 | 26.9 | 6.1 | 4.7 | 23.4 | 0.3 | 25.2 | 4.5 | 1.5 | 0.5 | 3.5 | 2.1 | 1,3 |
| Unplanted-Sdt-T0 | 14.5 | 11.0 | 2.6 | 32.4 | 0.0 | 20.8 | 0.3 | 0.6 | 3.8 | 13.3 | 0.2 | 0,6 |
| Unplanted-Sdt-T30 | 14.7 | 8.4 | 4.3 | 27.0 | 0.0 | 20.6 | 1.3 | 2.6 | 5.9 | 13.9 | 0.2 | 1,1 |
| Control-Sdt-T0 | 15.3 | 10.9 | 5.4 | 19.5 | 0.0 | 18.3 | 0.3 | 0.5 | 19.3 | 9.9 | 0.2 | 0,6 |
| Control-Sdt-T30 | 15.9 | 7.1 | 6.1 | 23.2 | 0.0 | 15.0 | 0.9 | 1.7 | 16.0 | 12.6 | 0.3 | 1,2 |

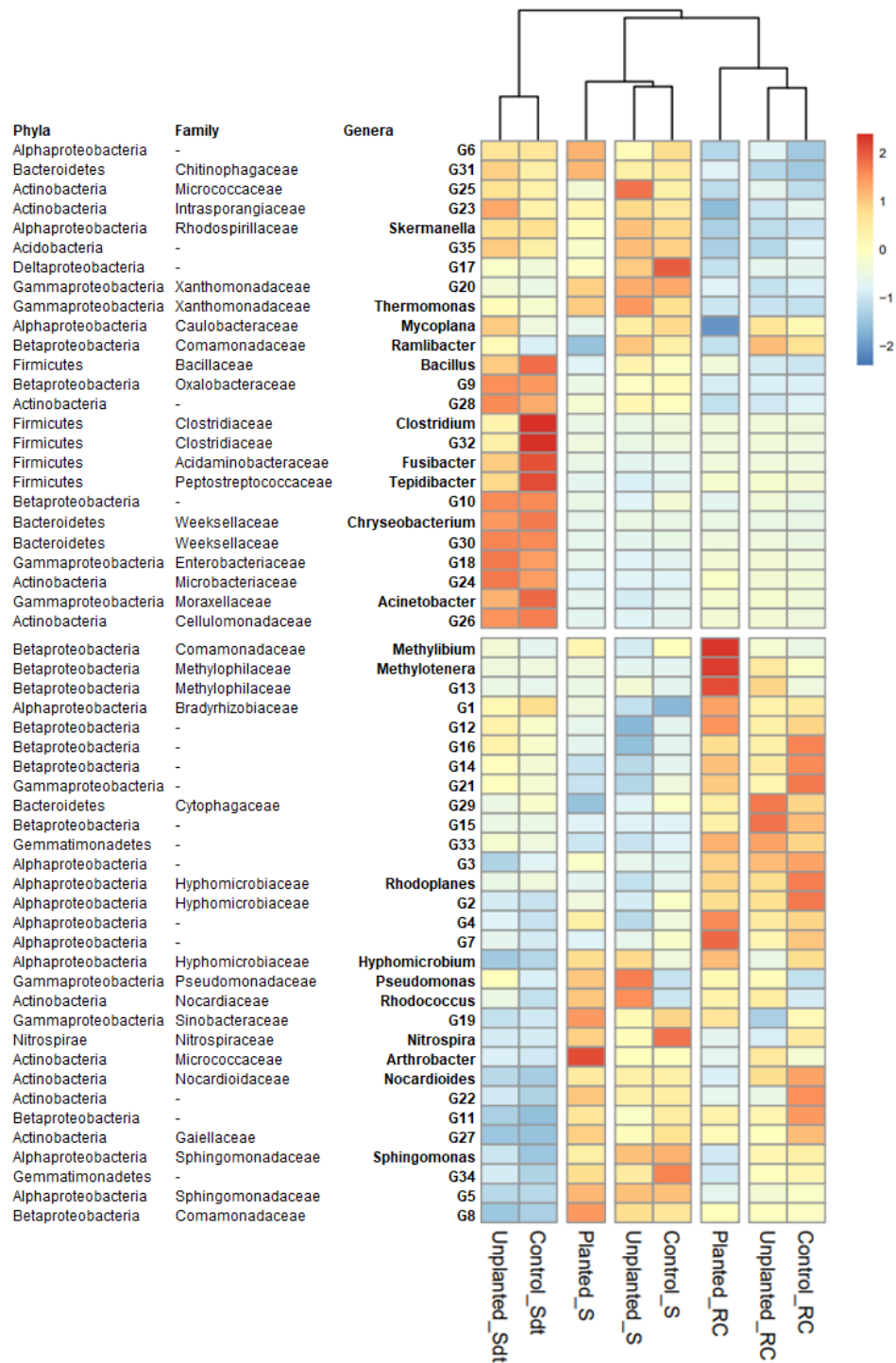
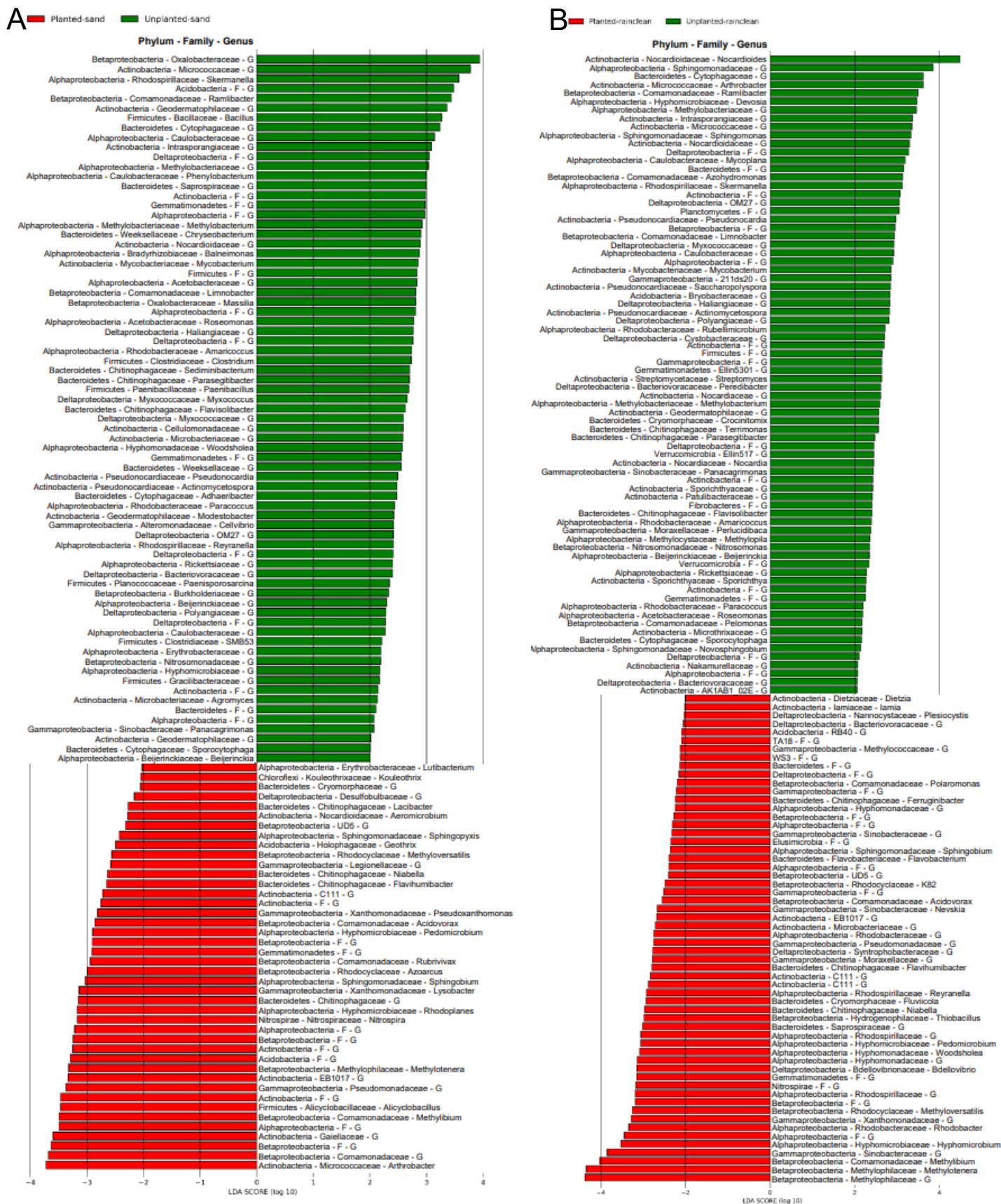


Figure 3.43: Z-score hierarchical clustering heat map representing the relative abundance of most abundant genera (> 1%) at the final time (T30) for all conditions and substrates. A clustering was made to link conditions with similar populations

Table 3.32 : Relative abundances of different bacterial genera with >1% abundance. Unknown genera are noted G. S: sand; RC: Rainclean; Sdt: sediment. Control corresponds to the unpolluted condition.

| Phyla | Class | Order | Family | Genera | Planted-S-T30 | Unplanted-S-T30 | Control-S-T30 | Planted-RC-T30 | Unplanted-RC-T30 | Control-RC-T30 | Unplanted-Sdt-T30 | Control-Sdt-T30 |
|----------------------|----------------------|-------------------|--------------------|----------------|---------------|-----------------|---------------|----------------|------------------|----------------|-------------------|-----------------|
| Proteo-bacteria | Alpha-proteobacteria | Caulobacteriales | Caulobacteraceae | Mycoplana | 0.52 | 0.63 | 0.61 | 0.29 | 0,56 | 0,52 | 0,20 | 0,14 |
| | | Rhizobiales | Bradyrhizobiaceae | G1 | 1.05 | 0.97 | 0.86 | 1.48 | 1,28 | 1,24 | 1,15 | 1,20 |
| | | Rhizobiales | Hyphomicrobiaceae | Rhodoplanes | 0.82 | 0.62 | 0.77 | 2.14 | 2,02 | 2,54 | 0,68 | 0,85 |
| | | Rhizobiales | Hyphomicrobiaceae | G2 | 0.76 | 0.64 | 0.82 | 1.31 | 1,27 | 1,58 | 0,13 | 0,17 |
| | | Rhizobiales | Hyphomicrobiaceae | Hyphomicrobium | 1.56 | 1.52 | 1.18 | 1.98 | 1,36 | 1,70 | 0,82 | 0,90 |
| | | Rhizobiales | - | G3 | 1.68 | 1.42 | 1.34 | 2.65 | 2,72 | 2,64 | 1,23 | 1,49 |
| | | Rhizobiales | - | G4 | 1.21 | 0.59 | 0.83 | 2.05 | 1,40 | 1,52 | 0,33 | 0,28 |
| | | Rhodospirillales | Rhodospirillaceae | Skermanella | 1.63 | 2.24 | 2.07 | 0.47 | 0,68 | 0,78 | 3,11 | 2,63 |
| | | Sphingomonadales | Sphingomonadaceae | Sphingomonas | 0.84 | 0.99 | 0.98 | 0.49 | 0,82 | 0,84 | 0,01 | 0,00 |
| | | Sphingomonadales | Sphingomonadaceae | G5 | 6.38 | 5.69 | 5.79 | 2.37 | 3,49 | 3,73 | 0,36 | 0,44 |
| | Sphingomonadales | - | G6 | 0.97 | 0.75 | 0.84 | 0.33 | 0,46 | 0,31 | 0,59 | 0,61 | |
| | - | - | G7 | 0.53 | 0.65 | 0.75 | 1.91 | 0,98 | 1,34 | 0,10 | 0,09 | |
| | Burkholderiales | Comamonadaceae | Methylibium | 1.08 | 0.56 | 0.93 | 2.66 | 0,86 | 0,69 | 0,52 | 0,30 | |
| | Burkholderiales | Comamonadaceae | G8 | 4.60 | 3.60 | 3.45 | 3.84 | 3,73 | 3,36 | 1,76 | 1,74 | |
| | Burkholderiales | Comamonadaceae | Ramlibacter | 0.46 | 0.92 | 0.78 | 0.47 | 1,00 | 0,86 | 0,42 | 0,22 | |
| | Burkholderiales | Oxalobacteraceae | G9 | 2.08 | 3.64 | 4.32 | 0.61 | 0,77 | 0,88 | 18,70 | 14,76 | |
| | Burkholderiales | - | G10 | 0.34 | 0.34 | 0.42 | 0.13 | 0,30 | 0,23 | 1,20 | 1,10 | |
| | Beta-proteobacteria | Ellin6067 | - | G11 | 2.29 | 1.63 | 2.03 | 2.50 | 2,40 | 3,35 | 0,47 | 0,25 |
| | | IS-44 | - | G12 | 0.34 | 0.19 | 0.32 | 0.83 | 0,50 | 0,63 | 0,01 | 0,00 |
| | | Methylophilales | Methylophilaceae | Methylotenera | 0.54 | 0.16 | 0.08 | 6.77 | 2,65 | 1,10 | 0,03 | 0,02 |
| | | Methylophilales | Methylophilaceae | G13 | 1.02 | 1.51 | 0.59 | 10.23 | 5,94 | 1,28 | 1,03 | 0,53 |
| | | MND1 | - | G14 | 0.19 | 0.22 | 0.32 | 0.99 | 0,70 | 1,14 | 0,01 | 0,00 |
| | Delta-proteobacteria | - | - | G15 | 0.38 | 0.37 | 0.28 | 3.65 | 7,92 | 5,37 | 0,70 | 0,70 |
| - | | - | G16 | 0.34 | 0.22 | 0.33 | 0.62 | 0,49 | 0,83 | 0,03 | 0,01 | |
| Myxococcale | | - | G17 | 1.19 | 1.72 | 2.24 | 0.60 | 0,91 | 0,87 | 1,22 | 0,94 | |
| Gamma-proteobacteria | | Enterobacteriales | Enterobacteriaceae | G18 | 0.03 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0,02 | 0,00 | 1,68 | 1,20 |
| | | Pseudomonadales | Moraxellaceae | Acinetobacter | 0.00 | 0.00 | 0.01 | 0.02 | 0,02 | 0,01 | 0,67 | 1,17 |

| | | | | | | | | | | | | |
|----------------------|---------------------|------------------|-----------------------|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | Pseudomonadales | Pseudomonadaceae | Pseudomonas | 2.04 | 2.32 | 0.63 | 1.73 | 1.59 | 0,58 | 1,57 | 0,55 |
| | | Xanthomonadales | Sinobacteraceae | G19 | 2.25 | 1.65 | 1.90 | 2.34 | 1,23 | 1,88 | 1,31 | 1,29 |
| | | Xanthomonadales | Xanthomonadaceae | G20 | 2.25 | 2.39 | 2.46 | 0.74 | 0,38 | 0,62 | 1,15 | 0,84 |
| | | Xanthomonadales | Xanthomonadaceae | Thermomonas | 1.50 | 1.73 | 1.29 | 0.08 | 0,05 | 0,08 | 0,76 | 0,47 |
| | | - | - | G21 | 0.38 | 0.38 | 0.55 | 1.05 | 0,73 | 1,26 | 0,25 | 0,26 |
| Actino- bacteria | Acidi- microbiia | Acidimicrobiales | - | G22 | 2.22 | 1.74 | 1.78 | 1.43 | 1,45 | 2,90 | 0,96 | 0,61 |
| | | Actinomycetales | Intrasporangiaceae | G23 | 1.44 | 1.63 | 1.50 | 0.60 | 0,95 | 1,08 | 2,67 | 1,61 |
| | Actino- bacteria | Actinomycetales | Microbacteriaceae | G24 | 0.11 | 0.20 | 0.13 | 0.24 | 0,13 | 0,17 | 1,12 | 0,85 |
| | | Actinomycetales | Micrococcaceae | Arthrobacter | 1.93 | 1.03 | 0.97 | 0.75 | 1,41 | 0,93 | 0,23 | 0,28 |
| | | Actinomycetales | Micrococcaceae | G25 | 0.80 | 1.77 | 1.08 | 0.27 | 0,61 | 0,32 | 1,51 | 1,07 |
| | | Actinomycetales | Nocardioidaceae | Nocardioides | 5.78 | 5.00 | 5.19 | 3.43 | 8,48 | 9,20 | 2,62 | 1,53 |
| | | Actinomycetales | Nocardiaceae | Rhodococcus | 1.97 | 2.21 | 0.55 | 1.74 | 1,85 | 0,57 | 0,71 | 0,09 |
| | | Actinomycetales | Cellulomonadaceae | G26 | 0.01 | 0.08 | 0.05 | 0.00 | 0,00 | 0,00 | 1,02 | 1,11 |
| Thermo- leophilia | Gaiellales | Gaiellaceae | G27 | 2.80 | 1.99 | 2.44 | 2.63 | 2,48 | 3,36 | 0,57 | 0,55 | |
| | Solirubrobacterales | - | G28 | 0.67 | 0.89 | 0.74 | 0.15 | 0,23 | 0,33 | 1,89 | 1,45 | |
| Bactero- idetes | Cytophagia | Cytophagales | Cytophagaceae | G29 | 0.56 | 0.88 | 1.06 | 1.53 | 2,22 | 1,65 | 0,84 | 1,02 |
| | Flavo- bacteria | Flavobacteriales | Weeksellaceae | Chryseobacterium | 0.13 | 0.27 | 0.18 | 0.00 | 0,00 | 0,00 | 3,00 | 2,96 |
| | | Flavobacteriales | Weeksellaceae | G30 | 0.06 | 0.13 | 0.11 | 0.00 | 0,00 | 0,00 | 2,92 | 2,41 |
| | Saprospirae | Saprospirales | Chitinophagaceae | G31 | 1.20 | 0.97 | 0.98 | 0.59 | 0,41 | 0,36 | 1,16 | 0,83 |
| Firmicutes | Bacilli | Bacillales | Bacillaceae | Bacillus | 0.28 | 0.63 | 0.49 | 0.29 | 0,08 | 0,10 | 0,55 | 1,00 |
| | | Clostridiales | Acidaminobacteraceae | Fusibacter | 0.02 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0,00 | 0,00 | 2,16 | 3,73 |
| | Clostridia | Clostridiales | Clostridiaceae | Clostridium | 0.12 | 0.22 | 0.20 | 0.06 | 0,08 | 0,10 | 0,28 | 2,73 |
| | | Clostridiales | Clostridiaceae | G32 | 0.16 | 0.17 | 0.16 | 0.01 | 0,03 | 0,01 | 0,22 | 2,19 |
| | | Clostridiales | Peptostreptococcaceae | Tepidibacter | 0.00 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0,00 | 0,00 | 0,21 | 1,18 |
| Gemmatimonadetes | C114 | - | G33 | 0,20 | 0.24 | 0.29 | 1.33 | 1.41 | 1,06 | 0,00 | 0,00 | |
| | - | - | G34 | 1,20 | 1.09 | 1.43 | 0.57 | 0,98 | 1,04 | 0,19 | 0,09 | |
| Nitro- spirae | Nitrospira | Nitrospirales | Nitrospiraceae | Nitrospira | 1.39 | 1.04 | 1.64 | 0.75 | 0,63 | 1,28 | 0,24 | 0,33 |
| Acido- bacteria | iii1-8 | DS-18 | - | G35 | 0.91 | 1.45 | 1.36 | 0.24 | 0,29 | 0,58 | 1,74 | 1,16 |
| TOTAL (%) | | | | | 65,22 | 63,92 | 62,10 | 73,93 | 72.93 | 68.82 | 68.98 | 63.93 |
| OTHERS (%) | | | | | 34,78 | 36,08 | 37,90 | 26,07 | 27.07 | 31.18 | 31.02 | 36.07 |



CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

XIII - Rappel des objectifs et de la méthodologie

Face aux problématiques de volumes et de contamination des eaux de ruissellement en ville, les ouvrages de gestion des eaux pluviales sont de plus en plus utilisés pour les stocker temporairement et limiter la contamination des milieux naturels par leur traitement. Parmi ces ouvrages, les filtres plantés de roseaux (FPR) sont une technique récemment adaptée aux eaux de ruissellement dont des connaissances sur le fonctionnement restent à acquérir. Notamment, les mécanismes et la dynamique d'accumulation d'éléments traces métalliques (ETM) et de micropolluants organiques (MPO) ainsi que le développement et le rôle des communautés microbiennes des substrats composants les FPR doivent être étudiés.

Dans le cadre du Projet LIFE ADSORB, un FPR a été mis en place en 2020 dans le Bois de Boulogne à Paris pour accueillir et traiter les eaux de ruissellement d'une partie du périphérique. Deux FPR ont été construits, l'un conventionnel (FS), l'autre innovant avec l'ajout d'une couche d'un substrat adsorbant (Rainclean, Rc) pour le traitement de polluants dissous (FR). Un des objectifs étant de modéliser le fonctionnement global de l'ouvrage afin d'en optimiser la conception et le suivi, il était nécessaire de suivre l'évolution des FPR dans le temps et l'espace, notamment le devenir de la pollution véhiculée par les eaux de ruissellement. Dans ce contexte, l'objectif de la thèse était de d'identifier et de caractériser les principaux processus biogéochimiques de rétention et d'élimination des MPO et ETM ayant lieu dans le massif filtrant des deux FPR, équipés ou non du substrat adsorbant. Les processus étant notamment contrôlés par les propriétés physico-chimiques des substrats et les communautés microbiennes les ayant colonisées, les interactions microorganismes/substrats, micropolluants/substrats, et microorganismes/ micropolluants ont été étudiées.

Les deux premières interactions ont été évaluées au cours d'une étude *in-situ* de trois ans des FPR. Pour chaque campagne, des échantillons du massif filtrant étaient prélevés à différentes profondeurs et à différentes distances par rapport à la zone d'entrée des eaux. Cela a permis d'avoir une évolution dynamique des deux FPR dans le temps et dans l'espace. Le développement du dépôt de sédiment et l'accumulation de micropolluants dans les différents substrats et dans la végétation exportée ont été déterminés par des bilans. L'objectif principal de cette partie était la description de l'évolution spatio-temporelle des propriétés physico-chimiques, des micropolluants et des communautés microbiennes des FPR. Afin d'étudier les interactions microorganismes-micropolluants, des essais de biodégradation ont été réalisés en conditions contrôlées. La biodégradation de trois MPO ciblés, le bisphénol-A (BPA), le 4-nonylphénol (4-NP) et 4-octylphénol (4-OP) a été réalisée dans des colonnes remplies de substrat des FPR, stérile ou non et planté ou non. L'objectif principal de cette partie était de comprendre le rôle des microorganismes, des substrats et de la végétation sur le processus de dégradation, et d'obtenir les constantes de dégradation associées afin d'alimenter le modèle du fonctionnement global de l'ouvrage. Les questions de recherche identifiées étaient donc les suivantes :

- Quelles sont les propriétés physico-chimiques des différents substrats constituant les massifs filtrants des deux filtres, et comment évoluent-elles ?
- Où et comment sont stockés les MPO et métalliques retenus ? Quelle est leur accumulation annuelle ? Une différence de stockage et d'accumulation est-elle observée entre les deux FPR ?
- La végétation participe-elle à l'accumulation des micropolluants dans les FPR ?
- Les substrats sont-ils considérés comme « pollués » après deux ans d'alimentation ? Quelle en serait leur gestion ?
- Quelles communautés bactériennes et fongiques sont présentes dans les deux FPR et quelles sont leurs activités ? Sont-elles impactées dans le temps et l'espace ?
- Quelles sont les cinétiques de biodégradation des MPO ciblés ? A quelles vitesses sont-ils dégradés ? Y-a-t-il une différence de dégradation selon le substrat ?
- L'ajout de MPO impacte-t-il la structure et l'activité des communautés microbiennes ? Quels sont les rôles de la végétation implantée dans les FPR et des différents substrats sur la sélection de communautés microbiennes et sur la dégradation des MPO ?

XIV - Conclusions scientifiques et opérationnelles

Cette partie développera les réponses apportées aux questionnements cités ci-dessus.

● **Quels sont les processus de rétention dans les FPR ? Où sont-ils retenus ?**

Les résultats de l'étude *in-situ* ont révélé une **hétérogénéité temporelle et spatiale** (horizontale et verticale) de la contamination des FPR, attribuable à une charge hétérogène d'eaux contaminées, plus importante en amont. Une couche sédiment s'accumulait alors en amont, à une vitesse moyenne de 4 m³/an soit une épaisseur moyenne de 1,8 cm/an. La diminution de l'épaisseur de sédiment était rapide avec l'éloignement de la zone d'alimentation, la couche était présente sur une longueur de filtre d'environ 35 m soit correspondant à un tiers de la longueur totale. Le processus de **sédimentation** dominait ainsi en amont des deux FPR, sur une surface représentant 42 et 32 % de la surface totale de FS et FR.

Les propriétés physico-chimiques du sable de surface étaient les plus impactées par les eaux apportées, les MES s'accumulant entre les pores majoritairement en amont favorisaient la rétention de carbone organique, azote et augmentaient sa CEC. Cela confirme la **filtration** des MES par le sable de surface, de façon également plus importante en amont (9 à 34 fois plus de carbone organique après 2 ans d'alimentation dans le sable de surface en amont contre 4 à 5 fois plus en aval).

Concernant les micropolluants, ceux majoritairement **particulaires** et **hydrophobes** (Cd, Cu, Pb, Zn, 4-NP, 4-OP, BPA, HAP et indices HC) étaient retenus principalement en **surface** et en **amont** des FPR, dans le sédiment et le sable de surface. Les processus de sédimentation et de filtration dominaient alors pour ces micropolluants. De plus, l'augmentation des teneurs en MPO dans le sédiment entre T1 et T2 contrairement à celle des ETM indiquait des processus d'adsorption des MPO dans cette couche. Cette adsorption a été mesurée et révélée lors des essais de biodégradation pour le sédiment mais également pour le sable de surface et Rc. Ces résultats indiquent que la sorption a lieu dans ces substrats, liée aux teneurs en carbone organique (sédiment et Rc). La sorption des ETM n'a pas pu être démontrée. Du fait de son augmentation de volume avec le temps, le sédiment a fortement contribué à l'accumulation des ETM et MPO du filtre, représentant en moyenne 51 % du Pb, 35 % du Cu, 38 % du Cd, 36 % du Zn, 38 % du 4-NP, 93 % du BPA, 100 % du 4-OP et entre 88 et 100 % des alkylphénols éthoxylés accumulés en deux ans, pour un volume représentant en moyenne seulement 2,7 % du volume total des FPR. Les différences entre les deux FPR étaient de l'ordre de 10 %. Le sable de surface était le deuxième contributeur de la rétention de ces micropolluants, avec en moyenne 33 % du Cd, 33 % de Cu, 37 % de Pb, 40 % de Zn, 54 % du 4-NP, 7 % du BPA et 0 à 12 % des alkylphénols éthoxylés et 4-OP accumulés en deux ans, pour un volume représentant 24,4 % du volume total des FPR. Pour les ETM et MPO, le sable du filtre FS contribuait plus fortement que dans FR à la rétention des micropolluants. Enfin, le Rc participait plus faiblement à la rétention de ces micropolluants, avec 36 % du Cd, 46 % du Cu, 24 % du Pb, 29 % du Zn, 0,25 % du BPA et 15 % du 4-NP accumulés en deux ans dans FR pour un volume plus important de 49 %. En comparaison, le sable moyen dans FS (même volume) accumulait en deux ans 15 % du Cd, 10 du Cu, 0 % du Pb, 12 % du Zn, 0 % de MPO. Le Rc semble donc retenir plus de micropolluants que le sable moyen en relatif.

Les ETM connus plus **mobiles** et potentiellement plus sous forme dissoute, Ni puis Cr, étaient surtout accumulés en **profondeur** et en **aval**. Au bout de deux ans, l'accumulation dans le sédiment représentait en moyenne 22 % du Cr et 9 % du Ni par rapport à l'accumulation totale. Dans le Rc, elle atteignait 67 % du Cr et 85 % du Ni accumulés en deux ans contre 28 et 48 % dans le sable moyen de FS. La zone amont représentait seulement 18 à 32 % de l'accumulation totale en deux ans du Ni. Leur faible rétention en amont pourrait indiquer leur remobilisation importante dans cette zone par les eaux claires circulant à des volumes importants dans les FPR (56 % d'eaux claires en moyenne reçus en deux ans). Même si les résultats indiquent que le Rc contribuait plus à la rétention de ces ETM que le sable moyen, le processus d'adsorption par le Rc n'était pas confirmé puisque l'accumulation annuelle restait du même ordre de grandeur dans le sable de FS à la même profondeur, alors que le sable est pauvre en site de sorption. Une rétention des colloïdes serait plutôt l'hypothèse émise. Les ETM plus mobiles étaient ainsi retenus par filtration des colloïdes ou bien par une sorption qui n'a pas encore été révélée. Les alkylphénols éthoxylés sont les seuls MPO qui avaient également tendance à être

retrouvés en centre et aval plutôt qu'en amont alors que leur hydrophobicité était similaire aux autres MPO.

Enfin, les stocks et vitesses d'accumulations indiquaient que la zone centre participait plus faiblement à la rétention de tous les ETM que l'aval ce qui est contraire aux observations d'autres auteurs. Cette observation est reliée à l'influence plus importante des eaux claires au centre qu'en aval, remobilisant alors plus les ETM, mais n'était pas visible pour les MPO.

Contrairement à la littérature, le sédiment ne révélait pas une diminution avec l'éloignement de la zone d'alimentation en eaux mais plutôt une diminution à l'entrée et à la fin de la zone amont. Ces diminutions observées ont été attribuées à la remobilisation des ETM par les eaux claires.

Ainsi, trois processus de rétention ont été démontrés dans les FPR : la **sédimentation** (essentiellement en amont), la **filtration** (essentiellement en amont) et l'**adsorption sur les particules de sédiment** (confirmée pour les MPO uniquement). Les résultats ne confirment pas la présence de processus de sorption dans le Rc pour le moment. Ces processus ont conduit à des augmentations du stock en ETM et MPO avec le temps. Cependant, des pertes locales en ETM mais surtout en MPO ont été observées pour certains échantillons indiquant que des processus d'élimination entraient également en jeu dans les FPR.

● **Quels sont les processus d'élimination des ETM et MPO ?**

Tout d'abord, des processus d'élimination ont été révélés dans les **substrats**, sous forme de diminution des stocks de micropolluants observées dans le temps.

Dans le sédiment, une diminution des teneurs en certains **ETM** (Zn et Cu) a été observée lors de la cartographie des sédiments entre T1 et T2. L'accumulation volumique annuelle calculée pouvait également être négative (Cr, Cu, Ni, Zn, quelques g à quelques dizaines de g perdu/m³/an) en rapportant l'accumulation à un même volume de sédiment entre T1 et T2. Seuls le Pb et Cd n'ont pas été appauvris en un an. Dans le sable de surface, une accumulation volumique annuelle négative (quelques g perdus/m³/an) était également observée localement entre T1 et T2, dans les zones centre (Cd, Cr, Ni, Pb, Zn) puis aval uniquement (Ni, Pb). Le Rc et sable profond ont aussi révélé des pertes locales (quelques g/m³/an) uniquement dans la zone centre pour le Rc (Cr, Ni, Pb, Zn) et dans les zones centre et aval pour le sable profond (tous les ETM au centre, Cu, Pb, Zn en aval). Un appauvrissement des ETM en un an d'alimentation était donc observé en amont uniquement pour le sédiment et au centre et aval pour les substrats des FPR.

Les ETM ayant une nature conservative, le processus attribué à ces pertes locales était la **remobilisation** des ETM par les eaux claires (56 % des volumes totaux) alimentant les FPR en plus du ruissellement, induisant alors du **lessivage** ou de la **lixiviation** des polluants particuliers/dissous déjà retenus. En amont, les apports étaient alors plus importants que ces pertes, l'accumulation n'était pas négative car compensée par les entrées tandis que dans la zone centre, les pertes pouvaient être plus importantes que les apports induisant une accumulation négative. C'était surtout en profondeur que les pertes étaient observées en aval, indiquant que les eaux de ruissellement pouvaient également remobiliser les ETM et les évacuer hors du système (très peu d'eaux claires dans cette zone). Le Pb était appauvri uniquement dans les zones centre et aval et dans le sable et Rc, pas dans le sédiment. Cela révèle probablement que du Pb colloïdal, plus mobile que dans le sédiment, traversait les couches et pouvait être relargué hors du système.

Ainsi, le passage des eaux claires dans le système a révélé avoir un impact non négligeable sur le devenir des ETM dans les FPR jouant ainsi sur l'élimination locale des ETM dans les FPR. Le Pb et Cd étaient moins soumis à ce processus révélant une mobilité plus faible dans les FPR. Les données de qualité d'eau en sortie permettront de savoir si les ETM remobilisés sortent du système ou non. Par ailleurs, le Rc accumulait et stockait plus des ETM en aval qu'en amont (le stock en aval étant 1,0 à 7,9 fois plus important qu'en amont), indiquant une remobilisation des ETM en amont. Cela indiquerait une force de rétention faible des ETM dans ce substrat adsorbant ou que les ETM colloïdaux n'étaient seulement pas retenus.

Concernant les **MPO**, des appauvrissements plus réguliers ont été observés dans les différents substrats en une année d'alimentation (T1-T2). Les alkylphénols éthoxylés étaient appauvris ou ne montraient pas d'accumulation importante (moins d'1 mg accumulé/m³/an) dans tous les échantillons, et le 4-OP et BPA s'accumulaient légèrement uniquement en surface, dans le sédiment de FS et dans le sable de surface des deux FPR. Le 4-NP était le seul MPO émergent s'accumulant de façon significative dans tous les substrats et zones (quelques dizaines de mg accumulées/m³/an en profondeur et aval au millier de mg/m³/an en surface en amont). La tendance à une diminution des teneurs était également observée pour les HAP et indices HC. Les MPO n'étant pas plus retrouvés en aval (7 à 35 fois plus de 4-OP, 4-NP ou BPA en amont qu'en aval) et le sédiment ayant adsorbé des MPO, le processus de remobilisation par les eaux claires était moins net que pour les ETM. Le 4-NP, plus concentré dans les eaux de ruissellement était un bon indicateur pour constater que la répartition spatiale ne semblait que peu impactée par les eaux claires. Il semblait donc indiquer que ce processus affectait moins le devenir des MPO. Ainsi, un autre processus serait responsable de l'élimination plus globale des MPO dans les FPR : la **biodégradation** par les microorganismes des différents substrats. Ce processus a été étudié au laboratoire au cours d'essais de biodégradation du 4-NP, 4-OP et BPA dans différentes conditions.

Les résultats ont confirmé la dégradation de ces trois MPO dans le sédiment, sable de surface et Rc dont la plus grande partie était attribuée aux **microorganismes** (60 à 99,6 % de dégradation avec entre 7,5 à 23,6 % de dégradation abiotique). Bien que les trois substrats étaient différents en termes de nature, induisant des communautés microbiennes distinctes, ils ont tous été capables de significativement dégrader les MPO. Le BPA était le composé le plus rapidement et fortement dégradé, avec un DT50 compris entre 2,34 et 4,06 jours en conditions plantée, et entre 3,18 et 2,32 jours en conditions non plantée pour le sable et Rc respectivement. Le Rc a montré presque pour tous les MPO des DT50 inférieurs à ceux du sable, avec des DT50 du 4-NP allant de 2,55 à 5,11 jours et de 1,75 à 4,83 jours pour le 4-OP. Dans le sable, les DT50 du 4-NP et 4-OP étaient différents selon si la végétation était présente ou non, avec des valeurs allant de 4,35 à 15,6 jours pour le 4-NP et allant de 6,81 à 13,6 jours pour le 4-OP. La présence de *Phragmites australis* a donc permis une dégradation plus rapide des composés dans le sable uniquement et indique un rôle important pour le traitement des MPO dans les FPR. Le Rc avait une bonne capacité de dégradation quel que soit la condition. Le sédiment a montré une dégradation comparable à celle du Rc (DT50 de 3,55 et 4,96 pour le 4-NP et le 4-OP) à l'exception du BPA (DT50 de 21,7 jours), probablement en raison de l'adsorption élevée du BPA par la matière organique présente dans le sédiment. Ces DT50 obtenus étaient du même ordre de grandeur que dans d'autres études, mais tendaient à se situer dans la **tranche basse** des valeurs (sauf le 4-OP et 4-NP dans le sable en condition non planté et le BPA dans le sédiment, faiblement dégradé).

La modélisation des cinétiques a été réalisée selon plusieurs modèles pour ajuster au mieux les données. Les modèles cinétiques adoptés étaient rarement du premier ordre, mais plutôt biphasiques, ce qui souligne l'importance du choix du modèle pour la bonne modélisation du processus. Ils ont révélé que la première phase de la cinétique était caractérisée par une diminution rapide des MPO (avec ou sans phase de latence). Elle était principalement liée aux communautés microbiennes des substrats et leur activité. La seconde phase, marquée par une dégradation très limitée ou nulle, était influencée par les propriétés physicochimiques des substrats, ayant un impact sur la rétention du polluant et donc sur sa biodisponibilité. Le sable a montré une faible phase résiduelle de MPO contrairement au Rc non planté (14,2 à 21,2 % non dégradé) et sédiment (21,9 à 40,4 % non dégradé), où ces pourcentages n'évoluaient plus après 14 jours d'incubation. Leurs plus fortes capacités de rétention que le sable expliqueraient ces résultats, étant plus organiques. Néanmoins, la présence de *P. australis* a permis une réduction de la phase résiduelle dans le Rc (3,9 contre 1 % pour le BPA, 16,8 contre 1% pour le 4-NP, 21,2 contre 17,4 % pour le 4-OP en condition non plantée et plantée respectivement) indiquant que la végétation des FPR jouerait également un rôle sur la limitation de l'accumulation des MPO dans ce substrat avec le temps.

L'utilisation d'échantillons ayant déjà été en contact avec ces MPO semble expliquer les DT50 plus faibles que la moyenne de la littérature puisque les autres publications utilisaient généralement des échantillons n'ayant jamais été en contact. L'adaptation des communautés aux MPO était validée par la mesure de diversité génétique bactérienne qui a révélé que les substrats étaient initialement riches en bactéries connues pour avoir la capacité de dégrader ces MPO, ce qui indique une adaptation des

communautés bactériennes aux eaux de ruissellement contaminées. L'exposition à des teneurs plus élevées en MPO au cours de la cinétique de biodégradation (3 à 60 fois pour le BPA, 8 à 93 fois pour le 4-NP en comparant les teneurs des essais aux teneurs au T2) n'a entraîné que des changements minimes dans les communautés microbiennes (activité et potentiel fonctionnel), sans différences significatives dans les taxons bactériens pour tous les substrats. Cela suggère que les populations bactériennes des trois substrats étaient suffisamment diversifiées et actives pour permettre une dégradation rapide des MPO, tout en conservant la structure de leur communauté.

Dans le sable (toutes conditions confondues), 5 genres bactériens recensés comme ayant la capacité de dégrader les MPO étaient présents en abondance supérieure à 1 % : *Hyphomicrobium*, *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* et *Rhodococcus*. Dans le RC, 4 genres bactériens étaient présents : *Hyphomicrobium*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* et *Rhodococcus*. Dans le sédiment, ils étaient 3 : *Acinetobacter*, *Pseudomonas* et *Bacillus*. Certains genres bactériens présumés capables de dégrader les MPO ont également été identifiés : *Methylibium* dans le sable et Rc, et *Methylotenera* dans le Rc. Lorsque l'identification n'a pas pu aller jusqu'au genre, des familles connues pour avoir la capacité de dégrader ces MPO étaient retrouvées. Dans le sable, des genres non identifiés appartenant aux familles *Sphingomonadaceae*, *Comamonadaceae*, *Methylophilaceae*, *Xanthomonadaceae* et *Micrococcaceae* ont été trouvés. Dans le Rc, des genres appartenant aux familles *Sphingomonadaceae*, *Comamonadaceae* et *Methylophilaceae* ont été trouvés. Dans les sédiments, des genres appartenant aux familles *Comamonadaceae*, *Methylophilaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Xanthomonadaceae* et *Micrococcaceae* ont été trouvés. Ces genres ou familles identifiés pourraient donc jouer un rôle dans la biodégradation des MPO. En plus de ces familles, le sable et surtout le sédiment contenaient un genre non identifié appartenant à la famille des *Oxalobacteraceae* qui pourraient également jouer un rôle sur la dégradation.

La présence de végétation a induit plus de changement d'activité et de diversité bactérienne avec le temps. Un plus grand nombre de bactéries connues pour dégrader les MPO avait une abondance significativement plus élevée en condition plantée que non plantée, pour le sable et Rc. Ces changements expliqueraient les différences de DT50 observées entre les deux conditions pour le sable. En revanche, même si les communautés du Rc ont été modifiées par la présence de *P. australis*, cela n'a pas impacté les DT50, indiquant que les communautés sont aussi efficaces peu importe la présence de végétation. Ces résultats confirment qu'après seulement un an et demi de fonctionnement (lors des essais), les communautés étaient acclimatées et avaient la capacité de dégrader ces MPO.

Ainsi, l'absence d'accumulation de MPO observée dans les FPR (sauf le 4-NP, le plus concentré dans les eaux) était directement liée à ce processus de biodégradation microbienne plutôt qu'aux processus de remobilisation. Les pertes par biodégradation étaient alors plus importantes que les apports par l'alimentation, conduisant à une diminution des stocks après un an d'alimentation. En surface et en amont, les apports pouvaient être plus importants que les pertes par dégradation, conduisant à une accumulation. La végétation implantée dans les FPR a révélé jouer un rôle significatif par l'augmentation des DT50 dans le sable et la réduction de la phase résiduelle dans le Rc. Les racines étant plus présente en surface, ce rôle sera dominant dans cette zone.

Les résultats des essais ont tout de même révélé des phases résiduelles dans le Rc non planté et le sédiment, ce qui pourrait causer une accumulation des alkylphénols surtout avec le temps dans ces substrats. Leur suivi est donc une nécessité afin de mettre en évidence cette accumulation possible, qui ne semble pas observée pour le moment, à part pour le 4-NP surtout dans le sédiment. Cependant, l'eau alimentant continuellement les FPR limite la mise en évidence de cette phase. De plus, entre T0 et T1, tous les échantillons excepté le sédiment s'étaient appauvris, soit des pertes plus importantes lors du T1 que lors du T2. Le temps de ressuyage plus important avant la campagne T1 aurait pu permettre une plus forte biodégradation des MPO. En effet, ce processus se déroule majoritairement à la fin d'une bûchée, en condition de désaturation des FPR. Cela révèle l'accumulation limitée des MPO dans les FPR lors des phases de repos des FPR.

Pour finir sur les processus d'élimination, un autre processus est **l'exportation** des micropolluants lors du faucardage annuel des *P. australis*. Les analyses ont révélé que le faucardage était un **processus mineur** sur l'exportation et donc l'élimination des micropolluants. En effet, au maximum 0,3 % du stock total d'ETM au T2 et 4,8 % du stock total des MPO émergents étaient exportés

par les parties aériennes. Cela représentait au maximum 142 g d'ETM exportés et 0,64 g de MPO émergents exportés. Le classement des ETM les plus accumulés suivait celui des teneurs dans les sols indiquant une proportionnalité des prélèvements par *P. australis*. En revanche, l'ordre était différent pour les MPO, indiquant une sélection des MPO. Ces données confirment les observations du rôle mineur des *P. australis* dans l'élimination de la contamination dans des FPR pour le traitement des eaux de ruissellement.

Ainsi, l'élimination des ETM était majoritairement liée à un processus, la remobilisation dont l'évacuation ou non hors du système par lessivage/lixiviation doit être vérifiée. L'exportation par le faucardage était un processus mineur. L'élimination des MPO était majoritairement liée à la biodégradation des composés par les communautés microbiennes des différents substrats et pourrait également être due à du lessivage/lixiviation par leur remobilisation lors du passage des eaux claires (processus non observé *in-situ* et plus complexe à mettre en évidence car deux processus ont lieu en parallèle). L'exportation par le faucardage était un processus mineur, mais plus important que pour les ETM. Les données de qualité d'eau en entrée et sortie des FPR sont **essentiels** afin de valider si l'élimination des ETM (et MPO) est seulement locale (rétention après la remobilisation).

● **Quel est le bilan global d'accumulation des micropolluants dans les FPR ?**

Malgré des pertes locales surtout au centre/aval et en profondeur, l'accumulation annuelle des ETM était **positive** sur l'ensemble des deux FPR (somme de toutes les couches), avec des vitesses (mesurées entre T1 et T2) de 0,02 à 0,02 g/m²/an pour le Cd, 1,2 à 1,4 g/m²/an pour le Cr, 5,2 à 7,3 g/m²/an pour le Cu, 1,5 à 1,1 g/m²/an pour le Ni, 1,0 à 1,6 pour le Pb et 13,4 à 14,0 g/m²/an pour le Zn dans les filtres FS et FR respectivement. Les processus de rétention dominaient donc sur une année. Au bout de 2 ans d'alimentation, le stock d'ETM dans l'ensemble des substrats des FPR était alors de 0,05 et 0,05 g/m² pour le Cd, de 7,7 et 8,6 g/m² pour le Cr, 11,5 et 17,9 g/m² pour le Cu, 8,9 et 9,5 g/m² pour le Ni, de 5,8 et 6,0 g/m² pour le Pb et de 32,4 et 36,0 g/m² pour le Zn dans FS et FR respectivement.

Malgré des accumulations locales en surface et en amont, l'accumulation surfacique annuelle des MPO était globalement **négative ou très faible** sur l'ensemble des FPR. Les vitesses étaient (entre T1 et T2) de 3,6 et 0,3 mg/m²/an pour le BPA, de 1,6 et -0,8 mg/m²/an pour le 4-OP, de 71,2 et 92,2 mg/m²/an pour le 4-NP dans les filtres FS et FR respectivement et entre -0,8 et 3,2 mg/m²/an pour les alkylphénols éthoxylés. Seul le 4-NP avait une vitesse d'accumulation significative dans les deux FPR, au-delà de quelques mg/m². Entre T1 et T2, les différences entre les deux FPR étaient liées à une plus forte contamination dans le sédiment de FS uniquement. Bien que des faibles accumulations aient été observées, comme une forte diminution des teneurs avait eu lieu entre T0 et T1, le stock total de MPO émergents au bout de deux ans était plus faible que le stock initial, sauf pour le 4-NP : 6,8 et 6,2 mg/m² pour le BPA, 3,5 et 2,6 mg/m² pour le 4-OP, 88,8 et 112,3 mg/m² pour le 4-NP, pour FS et FR respectivement et entre 0,5 et 4,5 mg/m² pour les alkylphénols éthoxylés. En comparaison, le stock initial était en moyenne de 6,4 mg/m² pour le BPA, 5,0 mg/m² pour le 4-OP et 11,9 mg/m² pour le 4-NP. Ainsi, le 4-NP est le seul MPO émergents présentant un risque d'accumulation pour le moment dans les deux FPR. Les HAP, indices HC, BPA, 4-OP et alkylphénols éthoxylés ne s'accumulent pas ou très peu pour le moment indiquant une performance prometteuse d'élimination des MPO une fois retenus dans les FPR, sauf dans le sédiment où les charges en polluants sont trop importantes donc dépassent les pertes.

A une échelle globale, le filtre FR **n'a pas démontré une efficacité plus importante** dans l'accumulation des micropolluants en deux ans, plus de temps semble nécessaire pour conclure sur le rôle du Rc sur l'efficacité des FPR, notamment avec la saturation progressive des sites de sorption des couches sus-jacentes. Les différences de stockage entre les deux FPR étaient plutôt reliées à des différences de stock dans le sédiment.

Le stockage des ETM après deux ans d'alimentation dans les FPR suivait l'ordre suivant: Zn >> Cu > Ni, Cr, Pb >> Cd et l'ordre de stockage des MPO était le suivant : HC >> 4-NP >> BPA > 4-OP (et OP1EO dans FS) > alkylphénols éthoxylés. Les ETM étaient plus stockés que les MPO ; deux raisons expliquent cela, les concentrations plus élevées en ETM dans les eaux de ruissellement, et la biodégradation continue des MPO dans les FPR.

● **Les substrats et la végétation peuvent-ils être considérés comme contaminés ?
Quelle serait la gestion des déchets ?**

Le sédiment est la seule couche des FPR ayant un volume qui croît avec le temps. Un nettoyage du filtre semble nécessaire en amont afin de limiter des épaisseurs trop importantes de sédiment, qui auraient pour conséquences la diminution du volume utile de flaquage et d'obstruer la zone d'alimentation du filtre. Il sera alors important de définir une limite temporelle à laquelle le curage sera effectué. Une fois évacué, il faut s'avoir qu'elle en serait la gestion, qui sera différente selon les conclusions apportées sur sa contamination.

Afin de déterminer le niveau de contamination après deux ans de fonctionnement, des **valeurs seuils de référence** ont été utilisées (issues de réglementations de différents pays : Belgique, Pays-Bas, Canada et Suède). Ces valeurs ont été définies comme des seuils d'intervention en cas d'utilisation sensible des sols (récréative, commerciale, résidentielle, institutionnelle) ou pour atteinte aux propriétés fonctionnelles du sol pour les êtres vivants. L'ouvrage étant situé dans le Bois de Boulogne à Paris, son utilisation est alors considérée comme sensible. Les ETM sont les polluants les plus réglementés, tandis que les MPO émergents étudiés ne sont pas réglementés à ce jour.

Concernant le **sédiment**, il s'agit de la couche la plus contaminée des deux FPR, les teneurs étaient les plus élevées pour tous les micropolluants (excepté pour le Ni dans FR, plus concentré dans le Rc) avec par exemple entre 1272-1300 ppm de Zn au T2. En comparant ses teneurs avec des valeurs de références, il était considéré comme pollué en raison du dépassement des valeurs seuils minimum définies, pour tous les ETM sauf le Ni. De plus les Cu et Zn dépassaient même les valeurs seuils maximum définies de 1,8 à 2 fois. Les HAP ne dépassaient aucun seuil. Cela indique que la valorisation de sédiments ne sera pas possible (épandages de boues par exemple), il devra être traité dans des sites de gestion des sols pollués. Les valeurs du Zn pour le **sable de surface**, variaient entre 46,2 et 133,8 ppm au T2. Il est en surface donc également au contact avec l'extérieur. En comparant ces teneurs aux valeurs seuils, aucun ETM dans le sable de surface ne les a dépassés après deux ans d'alimentation. Pour le moment, ce substrat peut donc être valorisé au lieu d'être considéré comme un déchet. Même si le **Rc** n'est pas en contact direct avec l'extérieur donc présente un risque écotoxicologique plus faible, il peut être comparé. Au T2, les teneurs en Cu et Ni étaient supérieures au seuil le plus strict uniquement, pouvant être jusqu'à 1,4 fois plus élevées pour les deux ETM. Il sera cependant complexe de valoriser ce substrat industriel dû à sa composition.

Enfin, les teneurs dans la **végétation** peuvent également être comparées à d'autres valeurs seuils (issues de réglementations françaises, la norme NF U 44-051 et la décision de la commission européenne sur les critères pour l'attribution de l'Ecolabel européen pour les amendements pour sols). La comparaison a révélé que les teneurs en ETM et quelques HAP réglementés étaient bien en dessous des seuils définis, qui étaient 6 à 291 fois plus élevés. Le Zn était le micropolluant le plus proche des teneurs seuils mais restait 6 à 12 fois plus faible. Cela indique que les parties aériennes peuvent être valorisées une fois faucardées comme déchets verts pour des amendements organiques.

Pour le moment (T2), le sédiment est donc la seule partie des FPR ne pouvant pas être valorisée en vue de sa pollution. La question se posant alors est la suivante : pendant combien de temps les substrats des FPR ne seront pas considérés comme pollués si les charges en polluants et que les vitesses d'accumulation restent constantes ? Une tentative d'extrapolation du temps disponible avant que les teneurs ne dépassent les seuils préconisés cités plus haut a été réalisée. Elle a révélé que pour le sable de surface, la zone amont sera la première zone considérée comme polluée au bout de 3 ans au minimum et 6 ans au maximum selon la valeur seuil considérée, en raison du dépassement des seuils pour le Cu et Zn. Concernant le Rc, la zone aval sera la première zone considérée comme polluée au bout de 1 an au minimum et 13 ans au maximum, en raison du dépassement des seuils pour le Cu et Ni. Ainsi, la zone en amont des deux FPR sera la plus importante à suivre pour le sable de surface puisqu'elle accumule le plus d'ETM, sauf le Ni. En revanche ce sera la zone aval la plus à risque pour le Rc, pour tous les ETM. Un suivi dans le temps permettra d'établir un réel dépassement des teneurs seuils qui obligera les gestionnaires à traiter ces substrats comme des déchets non valorisables.

● **Comment les communautés microbiennes se sont développées et ont-elles été impactées par l'alimentation des FPR ?**

En parallèle de la caractérisation des processus ayant lieu dans les FPR, la colonisation des communautés microbiennes dans les deux FPR selon le temps et l'espace a également été réalisée. Cela permettra d'enrichir les connaissances sur le développement et le rôle biologique des microorganismes dans les FPR. L'alimentation en eau a impacté les substrats via un enrichissement en nutriments (azote), carbone organique et polluants, important en amont. Ces apports hétérogènes dans l'espace ont impacté la colonisation selon la localisation horizontale et selon la localisation verticale.

Les résultats ont révélé que la diversité génétique, l'abondance bactérienne et les activités enzymatiques étaient favorisées et stimulées avec le **temps** dans le sable de surface et le Rc, démontrant une colonisation microbienne dans l'ouvrage. Les Proteobacteria (abondance relative comprise entre 55 et 72 % au T2) et les Ascomycota (abondance relative comprise entre 75 et 96 % au T2) étaient les embranchements bactériens et fongiques dominants dans tous les substrats, comme rapporté par d'autres auteurs dans des systèmes similaires. Les valeurs d'abondance bactérienne dans le sable de surface étaient comparables avec des ouvrages ayant reçu des eaux contaminées pendant une période plus longue. Les champignons se sont développés lors du T1, mais pas lors du T2 pour tous les substrats, indiquant que des variations météorologiques pourraient impacter leur développement. Les activités enzymatiques ont également fortement augmenté entre T0 et T2, particulièrement en surface et en amont (enrichissement jusqu'à 4 081 fois plus important entre T0 et T2) et surtout celles spécifiques aux cycles biogéochimiques de l'azote, du phosphore et du carbone. Enfin, la diversité alpha bactérienne et fongique a également augmenté avec le temps (particulièrement entre T0 et T1) indiquant une diversification des communautés, surtout entre T0 et T1. La diversité beta a alors révélé que le facteur temps était celui ayant le plus différencié les échantillons, suivi de la profondeur puis du type de substrat. A l'inverse, le potentiel fonctionnel a diminué dans le temps dans le sable et Rc et tend à retrouver son état d'origine depuis T2. La diversité microbienne plus grande s'est donc accompagnée d'une capacité à dégrader un nombre de sources de carbone plus faible, révélant que l'alimentation en eau de ruissellement au cours terme a apporté et sélectionné des microorganismes portant des fonctions similaires. Une redondance des fonctions portées par les communautés microbiennes est donc observée avec le temps dans les FPR. Malgré cela, les activités enzymatiques ont augmenté avec le temps indiquant un métabolisme moins diversifié mais plus actif dans ces ouvrages.

La diminution du potentiel associée à des activités enzymatiques spécifiques qui augmentent dès T1 indiquent donc une **spécialisation** rapide des communautés des deux substrats des FPR dans certains composés, liée à leur alimentation en eaux de ruissellement. Le métabolisme enzymatique s'est révélé devenir actif mais de façon spécifique aux apports des eaux de ruissellement donc que les communautés sont devenues moins diversifiées dans leurs fonctions, mais celles qu'elles portaient étaient fortement actives, surtout dans le sable de surface. Notamment, une dégradation accrue de polymères dans le sable de surface et le Rc a été révélée lors de l'étude du potentiel fonctionnel, indiquant une meilleure capacité de ces communautés à dégrader des molécules plus complexes, telles que les MPO. L'étude au long terme permettra de suivre l'adaptation des communautés microbiennes des substrats à une alimentation continue en eaux de ruissellement et de déceler si le potentiel fonctionnel deviendra plus important qu'initialement.

Le **sédiment**, étudié à partir de T1 était tout de suite caractérisé par de fortes valeurs d'abondance ($6 \cdot 10^5$ bactéries/g sec) et d'activité (2,6 à 31,8 fois plus actif que le second échantillon le plus actif), il était biologiquement très actif comparé au sable et Rc. Avec le temps, les activités enzymatiques ont continué d'augmenter, indiquant un développement une fois déposé en surface des FPR. Le sédiment était donc la couche des deux FPR la plus biologiquement active en plus d'être celle présentant la plus forte contamination de polluants. Aucun impact négatif n'a été observé entre T1 et T2 malgré l'augmentation de la contamination en MPO, indiquant des populations acclimatées aux eaux reçues. Les communautés microbiennes du sédiment étant celles amenées par les eaux et celles se développant une fois les MES déposés en surface, leur acclimatation plus importante est expliquée. De nombreux processus biologiques auront ainsi lieu dans le sédiment grâce à ce développement

important, indiquant un rôle important du sédiment sur les processus biogéochimiques des FPR, notamment la biodégradation qui a été démontrée précédemment (excepté pour le BPA).

Le **sable de surface** a montré la plus forte colonisation avec le temps qui était également la plus hétérogène dans l'espace, comme pour ses propriétés physico-chimiques et son accumulation de micropolluants. Le sable de surface de la zone amont était le plus différencié des autres échantillons avec des activités enzymatiques toutes plus importantes dans cette zone et qui diminuaient ensuite avec la distance de la zone d'alimentation (1,4 à 1682 fois plus actif en amont qu'en aval). L'abondance bactérienne fluctuait moins selon les zones, l'aval tendait à être plus abondant que l'amont (dans FR uniquement). Le potentiel était en revanche significativement plus important en aval des FPR (AWCD en moyenne 1,6 plus importante en aval qu'en amont). Cela révèle que la sollicitation par les eaux plus importante en amont impactait négativement ce paramètre selon la localisation horizontale, donc que la spécialisation des communautés du sable était plus importante en amont qu'en aval. De plus, les abondances relatives des Acidobacteria, Gammaproteobacteria et Basidiomycota étaient significativement positivement corrélées aux teneurs en micropolluants donc à l'amont. Ils pourraient jouer un rôle sur l'élimination des MPO. Les résultats obtenus pour ce substrat indiquent donc qu'il jouera un rôle important sur l'élimination des composés retenus dans l'ouvrage, principalement en amont. Le développement des communautés microbiennes de ce substrat a révélé être le plus sensible aux eaux de ruissellement reçues, plus chargées en amont. Les activités enzymatiques reflétaient la contamination de ce substrat. Le sable de surface en amont étant progressivement enrichi en MES par leur filtration, il tend à se rapprocher du sédiment en termes d'activité et de diversité génétique. Le temps a réduit la distance entre les communautés microbiennes du sable de surface et sédiment.

Le **Rc** a montré une évolution plus faible dans le temps et l'espace, reliée principalement à sa position sous la couche du sable (la majorité des nutriments, composés organiques et microorganismes exogènes sont retenus plus haut) mais également à une nature très basique et un rapport C/N très élevé. Comme pour le sable, l'abondance bactérienne et le potentiel étaient significativement plus importants en aval (AWCD 2,2 fois et abondance 3,5 fois plus importants en aval), zone la moins sollicitée par l'ouvrage. Les différences horizontales des activités enzymatiques étaient en revanche beaucoup moins marquées dans ce substrat, seule l'activité de la phosphatase basique était significativement supérieure en amont qu'en aval (1,8 fois plus importante en amont).

Enfin, le **sable profond** a faiblement été colonisé avec le temps et très peu de différences étaient observées selon la localisation horizontale. Les eaux ayant circulé dans les autres substrats sus-jacents, leur impact est limité dans cette couche car elles sont alors moins chargées. Son implication dans les processus d'élimination est donc minime.

Ainsi, la caractérisation des communautés microbiennes a permis de montrer un gradient selon la localisation verticale, avec le sédiment la couche la plus active, suivi du sable, puis du Rc et enfin du sable profond. Ce gradient était cohérent avec les observations d'autres auteurs et avec les apports de nutriments, matières organiques et l'effet rhizosphérique diminuant avec la profondeur. Un gradient selon la localisation horizontale a également été démontré pour le sable de surface surtout (activités, potentiel fonctionnel, abondance) et plus faiblement pour le Rc (potentiel fonctionnel et abondance). De plus, dans le sable de surface, la contamination plus importante en amont a induit une sélection de certains embranchements bactériens et fongiques et a inhibé le développement d'autres embranchements. Par ailleurs, la nature différente des substrats restait le facteur différenciant le plus les communautés microbiennes et leurs activités. Le sédiment se distinguait des autres en termes de communautés et d'activités microbiennes. Les conclusions sur les dynamiques observées dans le sable de surface étaient proches de celles lors de traitement des eaux usées, avec l'activité microbienne la plus importante en amont et en surface. Ces résultats confirment donc une colonisation microbienne avec le temps par des apports répétés d'eau de ruissellement dont les abondances, diversités et activités métaboliques étaient impactées par la localisation horizontale (sable de surface essentiellement) et verticale en raison de l'hétérogénéité des apports dans les FPR.

Finalement, ces observations permettent de conclure sur le fait que dans les FPR, l'activité microbienne était concentrée dans les premiers centimètres des FPR et majoritairement en amont. Cela indique que la surface des FPR, particulièrement en amont jouera un rôle plus important sur les processus d'élimination des MPO. Le processus de biodégradation pourrait alors être plus important en amont, où

les communautés deviendront de plus en plus acclimatées et actives avec le temps. Le fonctionnement biologique des FPR est alors hétérogène dans l'espace. Dans le filtre FR, la biodégradation démontrée dans le sédiment, sable de surface et Rc permettra une dégradation sur 30 cm de massif filtrant. Le Rc était toutefois en surface dans les colonnes, il n'y avait pas de couche sus-jacente, ce qui pourrait influencer la biodégradation réelle in situ, nécessitant des recherches plus approfondies. Dans le filtre FS, l'activité microbienne très faible dans le sable dès 10 cm de profondeur limiterait les processus microbiens dans 75 % du massif filtrant (activité plus faible que dans le Rc pour une même profondeur).

D'autre part, les alkylphénols éthoxylés étaient les seuls MPO plus accumulés en aval des FPR, alors que leur hydrophobicité est similaire aux autres MPO. Leurs concentrations plus faibles dans les eaux de ruissellement ainsi que les observations microbiologiques permettent d'émettre l'hypothèse suivante. En aval, les communautés microbiennes, bien que plus nombreuses et ayant un potentiel métabolique plus important, ont un métabolisme moins actif. Ainsi, elles dégraderaient moins fortement les MPO dans cette zone, d'autant que les éthoxylés sont des molécules plus lourdes et complexes. En amont, leur dégradation serait plus rapide que les apports d'autant qu'ils sont faiblement concentrés dans les eaux, tandis qu'en aval, les apports seraient alors supérieurs à la dégradation, conduisant à leurs plus fortes concentrations en aval. Cet effet n'est pas visible pour les MPO les plus concentrés dans les eaux et substrats (indices HC, 4-NP, 4-OP, BPA) car les charges plus importantes en amont rendraient cet effet invisible (apports>pertes).

XV - Limites des travaux de thèse

Ce travail de thèse a débuté en même temps que le projet, ainsi ce sont des premiers résultats qui nécessitent d'être approfondis avec le temps. Des hypothèses ont été émises mais ne pouvaient pas être confirmées ou infirmées.

D'une part, un manque de répétition des analyses (notamment les micropolluants) en raison des coûts élevés a freiné les analyses statistiques, et les incertitudes associées aux bilans n'ont pas pu être calculées. Une réflexion autour des incertitudes associées au bilan de l'accumulation a été entreprise mais le volume de données n'a pas permis de le faire pour ce manuscrit, ce qui sera une nécessité pour la suite. En effet, les résultats du suivi *in-situ* seront synthétisés et valorisés dans une publication scientifique, cette lacune sera comblée à ce moment-ci.

D'autre part, les données de qualité des eaux en entrée et sortie des FPR n'ayant pas pu être acquises pour le moment, le paramètre à l'origine des processus étudiés dans cette thèse n'était pas encore bien caractérisé. D'autant que le fonctionnement particulier de l'ouvrage conduisait à une alimentation importante de volumes d'eaux claires par temps sec dont l'impact doit être mieux caractérisé. Le suivi hydraulique de la qualité débute actuellement.

Ainsi, l'étude du comportement des différentes couches de substrats des FPR sur la rétention et l'élimination des micropolluants véhiculés par les eaux de ruissellement doit être poursuivie pour mieux approfondir les différents aspects étudiés au cours de cette thèse mais également pour aborder de nouveaux aspects.

XVI - Perspectives de recherche et opérationnelle

Cette thèse a permis de traiter les questions d'accumulation et d'élimination des MPO et métalliques dans deux FPR, ainsi que du développement des communautés microbiennes dans le temps et l'espace et leur rôle sur l'élimination des micropolluants. Cependant certaines zones d'ombres persistent et devraient être éclaircies par des études complémentaires.

Dans un premier temps, quelques analyses ont débuté lors de cette thèse mais n'ont pas pu être traitées entièrement par manque de temps.

- L'étude complète de la **croissance et physiologie des *Phragmites australis*** a été réalisée lors de la campagne T1 (et T0), mais les données, traitées n'ont pas pu être exploitées dans ce manuscrit. Elles semblaient pourtant montrer un développement hétérogène de la végétation également dans l'espace et entre les FPR (croissance plus faible dans FR par la présence du Rc). Un suivi au plus long terme du développement de la végétation entre les deux FPR doit être réalisé afin de constater si le Rc impacte réellement la croissance des végétaux, pouvant alors limiter leurs rôles dans les FPR. Un bilan complet

de l'absorption des ETM et MPO sera par ailleurs réalisé par la suite sur chaque partie du végétal (racines, rhizomes, feuilles, tiges) afin d'améliorer le bilan de masse qui sera réalisé par la suite (les racines et rhizomes manquaient dans l'étude).

- Afin d'évaluer la mobilité des ETM dans les différents substrats des FPR, un protocole **d'extractions séquentielles** a été mis en place et validé à partir de la référence du protocole d'extraction modifié BCR 1999 (Rauret et al., 1999) pour évaluer les compartiments de rétention des ETM dans les différents substrats. Cependant, les échantillons n'ont finalement pas pu être analysés. Il sera intéressant de réaliser cette mesure par la suite afin d'évaluer notamment la mobilité des micropolluants retenus dans le Rc, qui a également semblé en avoir libéré en amont malgré ses fortes capacités de sorption. Cela permettra également de vérifier la spéciation du Ni et Cr, ayant révélé un comportement particulier.

- Les teneurs seuils d'intervention n'étant pas disponibles en France, celles d'autres pays ont été utilisées pour statuer la contamination des différents substrats. Il serait intéressant de réaliser par la suite une Evaluation Quantitative des Risques Sanitaire (EQRS) afin d'estimer les **risques** pour la santé auxquels est soumise une population exposée à une pollution.

- Des **échantillons uniques** de sédiment et de sable de surface, subdivisé en sable très organique et sable moins organique ont été récupéré pour une caractérisation plus fine des communautés microbiennes dans les premiers centimètres de FPR. Les échantillons ont été préparés et stockés mais n'ont pas pu être analysés. Il pourrait être intéressant de répéter ces prélèvements lors de la prochaine campagne et de les analyser avec des mesures similaires mais réduites en nombre afin de mesurer un gradient précis d'activité et d'abondance microbienne selon l'éloignement de la zone d'alimentation dans les différents substrats.

- Enfin, les **phthalates** devaient initialement être étudiés mais l'appareil nécessaire n'était pas disponible pour causes de problèmes techniques et a fortement retardé le début de ces analyses. Les extraits sont aujourd'hui conservés au congélateur et pourront être analysés ultérieurement pour évaluer leur dynamique également.

D'autres perspectives doivent être **envisagées** pour améliorer les connaissances sur le fonctionnement des FPR pour le traitement des eaux de ruissellement.

- Biodégradation des MPO par les communautés microbiennes :

Les essais de biodégradation réalisés ont soulevé des questions. Le BPA, moins hydrophobe était plus rapidement éliminé dans le sable et le Rc, mais pas dans le sédiment. Il faudrait en comprendre la raison. Le mécanisme ayant conduit à une phase résiduelle plus faible dans le Rc en condition plantée n'a pas été étudié, seul l'impact de la végétation sur les communautés l'a été. Il serait intéressant de savoir quel processus permettait la disponibilité plus forte des MPO dans le Rc, notamment par l'étude de la libération d'exsudats racinaires. Les genres bactériens connus pour dégrader les MPO ciblés ont été recherchés dans l'étude. Il serait important d'évaluer également des genres non recensés pour agrandir les connaissances. Les communautés fongiques dans les ouvrages de gestion des eaux pluviales sont assez méconnues aujourd'hui, il serait intéressant de se concentrer sur cette population également lors de la biodégradation des MPO.

Un objectif initialement envisagé était une étude plus simple de biodégradation, sans plante, avec des volumes plus faibles d'échantillon mais un nombre plus important. L'objectif serait de quantifier plus finement si une hétérogénéité du potentiel de biodégradation des MPO selon la localisation horizontale et verticale s'observait, liées à des activités microbiennes différentes. Des essais avec chaque couche, issues des trois zones permettraient de visualiser les différences selon la sollicitation et contamination des zones en évaluant les pourcentages de biodégradation entre le temps initial et final des essais uniquement, limitant alors le nombre d'analyses.

Les essais de biodégradation ont été réalisés avec des MPO dissous dans l'eau. La part particulaire n'a donc pas été incluse n'étant généralement pas biodisponible. Il serait intéressant de réaliser ces essais avec une eau regroupant les deux formes pour évaluer s'ils sont biodégradés ou non.

Une étude plus approfondie des genres bactériens résistants à des teneurs élevées en MPO permettrait de chercher les bactéries les plus performantes pour leur dégradation. La bioaugmentation pourrait être une technique de remédiation envisagée dans les FPR pour optimiser le traitement.

La biodégradation pourrait être également étudiée *in-situ*, au travers d'une seule bâchée suivi d'un suivi de la dégradation du composé pendant deux semaines. Cependant, les MPO étant très peu concentrés dans les eaux, les valeurs risquent d'être rapidement inférieures à la LQ des appareils. Le 4-NP pourrait être suffisamment concentré pour être suivi selon cette méthode.

Enfin, les MPO étudiés au cours de cette thèse avaient des propriétés intrinsèques assez similaires. Les phtalates tels que le DEHP sont supposés être plus réfractaires à la biodégradation. Leur étude aurait été intéressante, mais les temps de demi-vie auraient induit de séparer les cinétiques et donc d'agrandir les coûts, ce qui n'a pas été réalisé. Leur dégradation plus complexe et lente pourrait être étudiée dans ces ouvrages.

- Suivi de la contamination des FPR :

Les premiers résultats obtenus au cours de cette thèse n'ont pas permis de réellement montrer une rétention plus forte de micropolluants dans le filtre FR. Un suivi au plus long terme, combiné avec l'efficacité épuratoire des FPR permettra de conclure réellement. D'autres MPO étudiés au cours de cette thèse ont été analysés avec des appareils trop peu sensibles, ce qu'il faudra régler pour les prochaines campagnes. En lien avec les micropolluants, les hétérogénéités des communautés microbiennes devraient être suivies pour valider l'hypothèse de l'acclimatation avec le temps, notamment le potentiel fonctionnel qui tendait à rattraper les valeurs initiales. Les communautés microbiennes devront être étudiées jusqu'aux genres afin de mettre en évidence le développement des taxons capables de dégrader les MPO des FPR. L'étude génétique des communautés devra être approfondie.

Une étude complète sur une année de l'eau en entrée et sortie, des processus de rétention et d'élimination des micropolluants dans les différents substrats ainsi que la dynamique des communautés microbiennes, en relation avec les efficacités épuratoires pourrait permettre de mettre en évidence les hétérogénéités temporelles ayant lieu dans les deux FPR. La comparaison entre les deux FPR permettrait d'évaluer le Rc sur des pas de temps réduits et d'apprécier la variabilité du fonctionnement des FPR. Par ailleurs, l'organisation des campagnes se faisait entre plusieurs laboratoires et participants. Il fallait également attendre un mois entre chaque campagne pour pouvoir prélever le FPR qui n'était plus alimenté. Ces deux contraintes ont fait que les campagnes T1 et T2 ont été réalisées à des temps de ressuyage différents (plus long au T1). La prochaine campagne de prélèvements devra être réalisée à la même période de l'année, et à un même temps de ressuyage entre la campagne précédente. Il faudra alors définir un temps fixe où les prélèvements sont réalisés puisque selon le temps de ressuyage, les MPO sont plus ou moins biodégradés, impactant alors le bilan de l'accumulation sur une année.

Le vieillissement des FPR permettra également de vérifier le maintien d'un bon fonctionnement avec le temps dans les deux configurations, et si l'un vieillit mieux que l'autre, notamment le Rc. C'est la première fois que ce substrat a été inclus dans un FPR, ainsi son vieillissement n'a jamais été étudié. Notamment, l'étude des vitesses d'accumulation au long terme comme réalisées au cours de cette thèse permettrait de mettre en évidence des variations voire diminutions de l'accumulation annuelle, permettant de détecter un éventuel dysfonctionnement du système, et de pouvoir le localiser. Le vieillissement pourra également être observé à l'échelle des communautés microbiennes et leur adaptation avec le temps et la contamination croissante, surtout en ETM. Les phases résiduelles observées dans le Rc et sédiment lors des essais de biodégradation impliquent un suivi de ces phases avec le vieillissement pour évaluer les risques d'accumulation de MPO liés à leur présence.

L'étude des propriétés de sorption des MPO et ETM est en cours par d'autres collaborateurs du projet. Elle permettra d'obtenir les constantes d'adsorption des différents matériaux des FPR. Cela permettra de démontrer ou non l'adsorption d'ETM dissous dans le sédiment, processus qui n'était pas visible sur site contrairement aux MPO.

La remobilisation des ETM a été démontrée dans ce travail, mais il n'a pas été possible de savoir s'ils étaient repiégés plus en aval ou s'ils sortaient du système. L'observation *in-situ* de ce processus était plus complexe pour les MPO étant en compétition avec la biodégradation. Des essais de relargage des ETM et MPO par le lessivage et lixiviation des matériaux avec des eaux claires prélevées *in-situ* pourraient permettre de quantifier ce processus dans les différents substrats des FPR.

Pour finir, quelques perspectives **opérationnelles** peuvent être énumérées.

La Ville de Paris doit évaluer les futurs besoins d'intervention pour les substrats et la végétation. Les déchets devront être traités selon leur contamination, révélée pour le sédiment uniquement pour le moment. Un curage des sédiments surtout dans la zone la plus en amont devra être fait pour limiter les risques d'obstruction d'écoulement et éviter une montée de niveau d'eau trop importante. La Ville de Paris pourrait récupérer et utiliser les végétaux exportés en les insérant dans une gestion de valorisation des déchets verts, puisque les teneurs ne dépassaient aucun seuil. Notamment, il serait possible de fournir ces roseaux faucardés aux gestionnaires du Bois de Boulogne, pour une revalorisation à la source. Enfin, l'extrapolation simple indiquait qu'un bilan au maximum dans 10 ans devra être réalisé pour vérifier les concentrations des micropolluants dans les substrats et pour vérifier les capacités adsorbantes présentes. Un protocole de maintenance doit donc être réalisé pour la gestion des différents matériaux composants les FPR.

Il sera nécessaire d'évaluer l'impact précis des eaux claires qui semblent négativement impacter la capacité de rétention des micropolluants par les FPR. Un travail de déconnexion ou de réduction des volumes est préconisé afin de limiter leur effet.

Enfin, il serait intéressant de mettre en place un protocole rapide d'évaluation des fonctions ciblées dans les FPR afin de vérifier les processus d'infiltration, de filtration, d'adsorption, de biodégradation et de remobilisation et de s'assurer du bon fonctionnement biogéochimique de l'ouvrage.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- A, D., D. Fujii, S. Soda, T. Machimura, et M. Ike. 2017. « Removal of Phenol, Bisphenol A, and 4-Tert-Butylphenol from Synthetic Landfill Leachate by Vertical Flow Constructed Wetlands ». *Science of The Total Environment* 578: 566-76. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.232>.
- Abedi, T., et A. Mojiri. 2019. « Constructed wetland modified by biochar/zeolite addition for enhanced wastewater treatment ». *Environmental Technology & Innovation* 16: 100472. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100472>.
- Adetunji, A. T., F. B. Lewu, R. Mulidzi, et B. Ncube. 2017. « The biological activities of β -glucosidase, phosphatase and urease as soil quality indicators: a review ». *Journal of soil science and plant nutrition* 17 (3): 794-807. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162017000300018>.
- AFNOR. 2006. « Norme NF U44-051 Amendements organiques - Dénominations, spécifications et marquage ». <https://www.boutique.afnor.org/fr-fr/norme/nf-u44051/amendements-organiques-denominations-specifications-et-marquage/fa125064/754>.
- . 2011. « Norme FD P16-004 Assainissement - Rôle potentiel des végétaux lors du traitement et du rejet des eaux usées ». AFNOR. <https://m.boutique.afnor.org/fr-fr/norme/fd-p16004/assainissement-role-potentiel-des-vegetaux-lors-du-traitement-et-du-rejet-d/fa160760/37137>.
- . 2020. « Qualité du sol — Lignes directrices relatives aux essais en laboratoire pour la biodégradation de produits chimiques organiques dans le sol sous conditions aérobies ».
- Afzal, M., S. Yousaf, T. G. Reichenauer, M. Kuffner, et A. Sessitsch. 2011. « Soil Type Affects Plant Colonization, Activity and Catabolic Gene Expression of Inoculated Bacterial Strains during Phytoremediation of Diesel ». *Journal of Hazardous Materials* 186 (2-3): 1568-75. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.12.040>.
- AgroParisTech. 2023. « Chimactiv - Ressources pédagogiques numériques interactives dans l'analyse chimique de milieux complexes ». 2023. <http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/methodologie/extraction/savoir-plus/8>.
- Agteren, M. H., S. Keuning, et D. B. Janssen. 1998. *Handbook on Biodegradation and Biological Treatment of Hazardous Organic Compounds*. Vol. 2. Environment & Chemistry. Dordrecht: Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-015-9062-4>.
- Aislabie, J., et J. R. Deslippe. 2013. « Soil Microbes and Their Contribution to Soil Services ». https://oldwww.landcareresearch.co.nz/_data/assets/pdf_file/0018/77040/1_12_Aislabie.pdf.
- Al-Ameri, M., B. Hatt, S. Le Coustumer, T. Fletcher, E. Payne, et A. Deletic. 2018. « Accumulation of Heavy Metals in Stormwater Bioretention Media: A Field Study of Temporal and Spatial Variation ». *Journal of Hydrology* 567: 721-31. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2018.03.027>.
- Al-Homaidan, A. A., T. G. Al-Otaibi, M. A. El-Sheikh, A. A. Al-Ghanayem, et F. Ameen. 2020. « Accumulation of Heavy Metals in a Macrophyte Phragmites Australis: Implications to Phytoremediation in the Arabian Peninsula Wadis ». *Environmental Monitoring and Assessment* 192 (3): 202. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-8177-6>.
- Alloway, B. J., éd. 2013. *Heavy Metals in Soils*. Vol. 22. Environmental Pollution. Dordrecht: Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-4470-7>.
- Al-Rubaei, A. M., L. S. Merriman, William F. Hunt, M. Viklander, J. Marsalek, et G. T. Blecken. 2017. « Survey of the Operational Status of 25 Swedish Municipal Stormwater Management Ponds ». *Journal of Environmental Engineering* 143 (6): 05017001. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0001203](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0001203).
- Alvarez, G., R. Chaussod, D. Cluzeau, B. Godden, C. Lemarié, L. Metzger, et X. Salducci. 2002. « Activités biologiques et fertilité des sols. Intérêts et limites des méthodes analytiques disponibles ». ITAB. <https://www.itab.asso.fr/downloads/com-agro/acti-bio-ferti-sol-8-novembre-2002.pdf>.
- Anandan, R., D. Dharumadurai, G. P. Manogaran, R. Anandan, D. Dharumadurai, et G. P. Manogaran. 2016. « An Introduction to Actinobacteria ». In *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/62329>.
- Anderson, J. P. E., et K. H. Domsch. 1978a. « A Physiological Method for the Quantitative Measurement of Microbial Biomass in Soils ». *Soil Biology and Biochemistry* 10 (3): 215-21. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(78\)90099-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(78)90099-8).
- . 1978b. « A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. » *Biology and Biochemistry Soils* 10: 215-21. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(78\)90099-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(78)90099-8).
- Anderson, M. J., T. O. Crist, J. M. Chase, M. Vellend, B. D. Inouye, A. L. Freestone, N. J. Sanders, et al. 2011. « Navigating the Multiple Meanings of β Diversity: A Roadmap for the Practicing Ecologist ». *Ecology Letters* 14 (1): 19-28. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01552.x>.
- Anderson, T. A., E. A. Guthrie, et B. T. Walton. 1993. « Bioremediation in the Rhizosphere. » *Environmental Science & Technology* 27 (13): 2630-36. <https://doi.org/10.1021/es00049a001>.
- Andreoni, V., L. Cavalca, M.A. Rao, G. Nocerino, S. Bernasconi, E. Dell'Amico, M. Colombo, et L. Gianfreda. 2004. « Bacterial Communities and Enzyme Activities of PAHs Polluted Soils ». *Chemosphere* 57 (5): 401-12. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.06.013>.
- ANSES. 2013. « Evaluation des dangers de composés de la famille des bisphénols | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail ». 2013. <https://www.anses.fr/fr/content/evaluation-des-dangers-de-compos%C3%A9s-de-la-famille-des-bisph%C3%A9nols>.
- . 2015. « Connaissances relatives aux données de toxicité sur les composés de la famille des Phtalates (Tome 3) ». <https://www.anses.fr/fr/system/files/SUBCHIM2009sa0331Ra-106.pdf>.
- Aryal, R. K., H. Furumai, F. Nakajima, et M. A. Hossain. 2007. « Vertical Distribution and Speciation of Heavy Metals in Stormwater Infiltration Facilities: Possible Heavy Metals Release to Groundwater ». *Water Practice and Technology* 2 (2). <https://doi.org/10.2166/wpt.2007.052>.

- Asensio, R., S. Minatchi, R. Achard, et P. Fernandes. 2010. « L'activité enzymatique, un indicateur simple et fiable pour prévoir l'impact des pratiques culturales sur la qualité des sols. » https://agritrop.cirad.fr/556672/1/document_556672.pdf.
- Atteia, O. 2015. *Chimie et Pollutions des Eaux Souterraines*. Lavoisier. Paris.
- Bacon, J. R., et C. M. Davidson. 2008. « Is There a Future for Sequential Chemical Extraction? » *The Analyst* 133 (1): 25-46. <https://doi.org/10.1039/B711896A>.
- Badin, A-L., T. Mustafa, C. Bertrand, A. Monier, C. Delolme, et J-P. Bedell. 2012. « Microbial Communities of Urban Stormwater Sediments: The Phylogenetic Structure of Bacterial Communities Varies with Porosity ». *ResearchGate* 81 (2). <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01354.x>.
- Bai, Y., J. Liang, R. Liu, C. Hu, et J. Qu. 2014. « Metagenomic Analysis Reveals Microbial Diversity and Function in the Rhizosphere Soil of a Constructed Wetland ». *Environmental Technology* 35 (20): 2521-27. <https://doi.org/10.1080/09593330.2014.911361>.
- Baird, W. M., L. A. Hooven, B. Mahadevan, A. Luch, A. Seidel, et P. L. Iversen. 2002. « Responses of Human Cells to PAH-Induced DNA Damage ». *Polycyclic Aromatic Compounds* 22 (3-4): 771-80. <https://doi.org/10.1080/10406630290103924>.
- Barbosa, A. E., J. N. Fernandes, et L. M. David. 2012. « Key issues for sustainable urban stormwater management ». *Water Research*, Special Issue on Stormwater in urban areas, 46 (20): 6787-98. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.05.029>.
- Bastviken, S. K., P.G. Eriksson, A. Premrov, et K. Tonderski. 2005. « Potential Denitrification in Wetland Sediments with Different Plant Species Detritus ». *Ecological Engineering* 25 (2): 183-90. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2005.04.013>.
- Batty, L. C. 2003. « Wetland Plants - More than Just a Pretty Face? » *Land Contamination & Reclamation* 11 (2): 173-80. <https://doi.org/10.2462/09670513.812>.
- Becouze-Lareure, C., A. Dembélé, M. Coquery, C. Cren-Olivé, et J-L. Bertrand-Krajewski. 2019. « Assessment of 34 Dissolved and Particulate Organic and Metallic Micropollutants Discharged at the Outlet of Two Contrasted Urban Catchments ». *Science of The Total Environment* 651: 1810-18. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.042>.
- Berg, G., et K. Smalla. 2009. « Plant Species and Soil Type Cooperatively Shape the Structure and Function of Microbial Communities in the Rhizosphere: Plant Species, Soil Type and Rhizosphere Communities ». *FEMS Microbiology Ecology* 68 (1): 1-13. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x>.
- Bergé, A., M. Cladière, J. Gasperi, A. Coursimault, B. Tassin, et R. Moilleron. 2012. « Meta-Analysis of Environmental Contamination by Alkylphenols ». *Environmental Science and Pollution Research* 19 (9): 3798-3819. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1094-7>.
- Berger, R. 2020. « Mobilité – Donner une nouvelle « voix » à l'Île-de-France ». https://www.rolandberger.com/publications/publication_pdf/MKT_Publi_2020_005_Kisio_Blue_V4.pdf.
- Bertelkamp, C., K. Schoutteten, L. Vanhaecke, J. Vanden Bussche, C. Callewaert, N. Boon, N. Singhal, J. P. van der Hoek, et A. R. D. Verliefe. 2015. « A laboratory-scale column study comparing organic micropollutant removal and microbial diversity for two soil types ». *Science of The Total Environment* 536: 632-38. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.056>.
- Bertrand, J.C., Caumette, Lebaron, Normand, et Matheron,. 2011. *Ecologie Microbienne : Microbiologie des milieux naturels et anthropisés pdf*. Presses universitaires de Pau et des Pays de l'Adour.
- Bertrand-Krajewski, J-L., D. Laplace, C. Joannis, et G. Chebbo. 2000. *Mesures en hydrologie urbaine et assainissement*.
- Bertrand-Krajewski, J-L., M. Uhl, et F. H. L. R. Clemens-Meyer. 2021. « Uncertainty Assessment » Chapter 8. https://doi.org/10.2166/9781789060119_0263.
- Beryani, A., K. Flanagan, M. Viklander, et G-T. Blecken. 2023. « Occurrence and Concentrations of Organic Micropollutants (OMP) in Highway Stormwater: A Comparative Field Study in Sweden ». <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2409923/v1>.
- . 2023b. « Performance of a Gross Pollutant Trap-Biofilter and Sand Filter Treatment Train for the Removal of Organic Micropollutants from Highway Stormwater (Field Study) ». *Science of The Total Environment* 900: 165734. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165734>.
- Billore, S.K., N. Singh, H.K. Ram, J.K. Sharma, V.P. Singh, R.M. Nelson, et P. Dass. 2001. « Treatment of a Molasses Based Distillery Effluent in a Constructed Wetland in Central India ». *Water Science and Technology* 44 (11-12): 441-48. <https://doi.org/10.2166/wst.2001.0864>.
- Birch, G. F., C. Matthai, M. S. Fazeli, et J. Y. Suh. 2004. « Efficiency of a Constructed Wetland in Removing Contaminants from Stormwater ». *Wetlands* 24 (2): 459. [https://doi.org/10.1672/0277-5212\(2004\)024\[0459:EOACWII\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1672/0277-5212(2004)024[0459:EOACWII]2.0.CO;2).
- Björklund, K. 2010. « Substance Flow Analyses of Phthalates and Nonylphenols in Stormwater ». *Water Science and Technology* 62 (5): 1154-60. <https://doi.org/10.2166/wst.2010.923>.
- Blecken, G-T., Y. Zinger, A. Deletić, T. D. Fletcher, et M. Viklander. 2009. « Influence of Intermittent Wetting and Drying Conditions on Heavy Metal Removal by Stormwater Biofilters ». *Water Research* 43 (18): 4590-98. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.07.008>.
- Boesten, J. J. T. I., K. Aden, C. Beigel, M. Dust, J. S. Dyson, et G. Soulas. 2014. « Guidance document on estimating persistence and degradation kinetics from environmental fate studies on pesticides in EU registration. Report of the FOCUS Work Group on Degradation Kinetics, EC Doc. » https://esdac.jrc.ec.europa.eu/public_path/projects_data/focus/dk/docs/FOCUSkineticsvc1.1Dec2014.pdf.
- Boivin, P., M. Saadé, H. R. Pfeiffer, C. Hammecker, et Y. Degoumois. 2008. « Depuration of Highway Runoff Water into Grass-Covered Embankments ». *Environmental Technology* 29 (6): 709-20. <https://doi.org/10.1080/09593330801986972>.

- Bolden, A. L., J. R. Rochester, K. Schultz, et C. F. Kwiatkowski. 2017. « Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Female Reproductive Health: A Scoping Review ». *Reproductive Toxicology* 73: 61-74. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.07.012>.
- Bolyen, E., J. R. Rideout, M. R. Dillon, N. A. Bokulich, C. C. Abnet, G. A. Al-Ghalith, H. Alexander, et al. 2019. « Reproducible, Interactive, Scalable and Extensible Microbiome Data Science Using QIIME 2 ». *Nature Biotechnology* 37 (8): 852-57. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>.
- Boonnorat, J., C. Chiemchaisri, W. Chiemchaisri, et K. Yamamoto. 2014. « Microbial Adaptation to Biodegrade Toxic Organic Micro-Pollutants in Membrane Bioreactor Using Different Sludge Sources ». *Bioresource Technology* 165: 50-59. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.024>.
- Bourceret, A. 2016. « Variabilité spatio-temporelle des HAP et des communautés microbiennes dans la rhizosphère d'un sol historiquement contaminé ». <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01754573v1>.
- Boutin, C., et A. Dutartre. 2014. « Note. Des macrophytes pour épurer les eaux? », n° 15: 5. <https://doi.org/10.14758/SET-REVUE.2014.15.13>.
- Boutrup, S., M. Dam, A. B. Hansen, P. Lassen, et B. B. Mogensen. 2008. *Screening of Phenolic Substances in the Nordic Environments*. Nordic Co-operation | Nordic Council & Nordic Council of Ministers. <https://policycommons.net/artifacts/1149123/screening-of-phenolic-substances-in-the-nordic-environments/>.
- Bowen, J. L., P. J. Kearns, J. E. K. Byrnes, S. Wigginton, W. J. Allen, M. Greenwood, K. Tran, J. Yu, J. T. Cronin, et L. A. Meyerson. 2017. « Lineage Overwhelms Environmental Conditions in Determining Rhizosphere Bacterial Community Structure in a Cosmopolitan Invasive Plant ». *Nature Communications* 8 (1): 433. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00626-0>.
- Branchu, P., A-L. Badin, B. Bechet, L. Eisenlohr, T. Le Priol, F. Marseille, et E. Trielli. 2013. « Pollution d'origine routière et environnement de proximité ». *Vertigo*, n° Hors-série 15. <https://doi.org/10.4000/vertigo.12775>.
- Branchu, P., G. Quiniou, et T. Foucart. 2018. « Suivi hydraulique et qualitatif du filtre planté de Leuville sur Orge (91) - Programme ADEPTE ».
- Bray, J. R., et J. T. Curtis. 1957. « An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin ». *Ecological Monographs* 27 (4): 326-49. <https://doi.org/10.2307/1942268>.
- Bressy, A. 2010. « Flux de micropolluants dans les eaux de ruissellement urbaines: effets de différents modes de gestion à l'amont ». Thèse de doctorat, Université Paris-Est. <https://pastel.hal.science/tel-00582379>.
- Briand, C., A. Bressy, C. Ghassan, J-F. Deroubaix, S. Deshayes, J-C. Deutsch, J. Gasperi, et al. 2018. « Que sait-on des micropolluants dans les eaux urbaines? » 978-2-490463-00-8. ARCEAU IdF; AFB - Agence française pour la biodiversité. <https://enpc.hal.science/hal-01803319/document>.
- Brix, H. 1994. « Functions of Macrophytes in Constructed Wetlands ». *Water Science and Technology* 29 (4): 71-78. <https://doi.org/10.2166/wst.1994.0160>.
- . 1997. « Do Macrophytes Play a Role in Constructed Treatment Wetlands? » 35 (5): 7. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00047-4](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00047-4).
- Brohon, B., C. Delolme, et R. Gourdon. 2001. « Complementarity of Bioassays and Microbial Activity Measurements for the Evaluation of Hydrocarbon-Contaminated Soils Quality ». *Soil Biology and Biochemistry* 33 (7): 883-91. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00234-0](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00234-0).
- Brown, S., D. Devin-Clarke, M. Doubrava, et G. O'Connor. 2009. « Fate of 4-Nonylphenol in a Biosolids Amended Soil ». *Chemosphere* 75 (4): 549-54. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.12.001>.
- Bu, Q. W., Z. H. Zhang, S. Lu, et F. P. He. 2009. « Vertical Distribution and Environmental Significance of PAHs in Soil Profiles in Beijing, China ». *Environmental Geochemistry and Health* 31 (1): 119-31. <https://doi.org/10.1007/s10653-008-9171-z>.
- Budai, P., et A. Clement. 2011. « Refinement of National-Scale Heavy Metal Load Estimations in Road Runoff Based on Field Measurements ». *Transportation Research Part D: Transport and Environment* 16 (3): 244-50. <https://doi.org/10.1016/j.trd.2010.12.003>.
- Bueis, T., M. B. Turrión, F. Bravo, V. Pando, et A. Muscolo. 2018. « Factors Determining Enzyme Activities in Soils under Pinus Halepensis and Pinus Sylvestris Plantations in Spain: A Basis for Establishing Sustainable Forest Management Strategies ». *Annals of Forest Science* 75 (1): 34. <https://doi.org/10.1007/s13595-018-0720-z>.
- Bulc, T., et A. Sajin Slak. 2003. « Performance of Constructed Wetland for Highway Runoff Treatment ». *Water Science and Technology* 48 (2): 315-22. <https://doi.org/10.2166/wst.2003.0136>.
- Bulc, T., D. Vrhovsek, et V. Kukanja. 1997. « The use of constructed wetland for landfill leachate treatment. » *Water Science and Technology* 35 (5): 301-6. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00083-8](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00083-8).
- Burns, A., et D. S. Ryder. 2001. « Response of Bacterial Extracellular Enzymes to Inundation of Floodplain Sediments ». *Freshwater Biology* 46 (10): 1299-1307. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.2001.00750.x>.
- Burton, G. A., et R. Pitt. 2001. *Stormwater Effects Handbook: A Toolbox for Watershed Managers, Scientists, and Engineers*. CRC Press. Boca Raton: CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420036244>.
- Cai, W., Y. Li, P. Wang, L. Niu, W. Zhang, et C. Wang. 2016. « Effect of the Pollution Level on the Functional Bacterial Groups Aiming at Degrading Bisphenol A and Nonylphenol in Natural Biofilms of an Urban River ». *Environmental Science and Pollution Research* 23 (15): 15727-38. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6757-3>.
- Calheiros, C. S. C., A. O. S. S. Rangel, et P. M. L. Castro. 2007. « Constructed Wetland Systems Vegetated with Different Plants Applied to the Treatment of Tannery Wastewater ». *Water Research* 41 (8): 1790-98. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.01.012>.
- Callahan, B. J., P. J. McMurdie, et S. P. Holmes. 2017. « Exact Sequence Variants Should Replace Operational Taxonomic Units in Marker-Gene Data Analysis ». *The ISME Journal* 11 (12): 2639-43. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.119>.

- Callahan, B. J., P. J. McMurdie, M. J. Rosen, A. W. Han, A. J. A. Johnson, et S. P. Holmes. 2016. « DADA2: High-Resolution Sample Inference from Illumina Amplicon Data ». *Nature Methods* 13 (7): 581-83. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>.
- Cartwright, C. D., I. P. Thompson, et R. G. Burns. 2000. « Degradation and Impact of Phthalate Plasticizers on Soil Microbial Communities ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 19 (5): 1253-61. <https://doi.org/10.1002/etc.5620190506>.
- Carvalho, P., C. Arias, et H. Brix. 2017. « Constructed Wetlands for Water Treatment: New Developments ». *Water* 9 (6): 397. <https://doi.org/10.3390/w9060397>.
- Cazelles, K., W. Otten, P. C. Baveye, et R. E. Falconer. 2013. « Soil Fungal Dynamics: Parameterisation and Sensitivity Analysis of Modelled Physiological Processes, Soil Architecture and Carbon Distribution ». *Ecological Modelling* 248: 165-73. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2012.08.008>.
- Chambre Régionale d'Agriculture PACA. 2022. « Charte pour une valorisation agricole des déchets verts de qualité en Région Sud Provence-Alpes-Côte-d'Azur ».
- Chang, B. V., B. W. Chiang, et S. Y. Yuan. 2007. « Biodegradation of Nonylphenol in Soil ». *Chemosphere* 66 (10): 1857-62. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.08.029>.
- Chang, B. V., F. Chiang, et S. Y. Yuan. 2005. « Biodegradation of Nonylphenol in Sewage Sludge ». *Chemosphere* 60 (11): 1652-59. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.02.042>.
- Chang, B. V., C. S. Liao, et S. Y. Yuan. 2005b. « Anaerobic Degradation of Diethyl Phthalate, Di-n-Butyl Phthalate, and Di-(2-Ethylhexyl) Phthalate from River Sediment in Taiwan ». *Chemosphere* 58 (11): 1601-7. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.11.031>.
- Chang, B. V., C. L. Liu, S. Y. Yuan, C. Y. Cheng, et W. H. Ding. 2008. « Biodegradation of nonylphenol in mangrove sediment ». *International Biodeterioration & Biodegradation* 61 (4): 325-30. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2007.10.004>.
- Chang, Y-C., M. V. Reddy, H. Umemoto, S. Kondo, et D. Choi. 2020. « Biodegradation of Alkylphenols by Rhizosphere Microorganisms Isolated from the Roots of Hosta Undulata ». *Journal of Environmental Chemical Engineering* 8 (3): UNSP 103771. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.103771>.
- Chaussod, R., et M. C. Breuil. 1996. « La qualité biologique des sols , évaluation et implications. » *Étude et Gestion des Sols* 3: 261-78.
- Chazarenc, F., J. Brisson, et G. Merlin. 2010. « Seasonal and Spatial Changes of Microorganism Communities in Constructed Wetlands: A Community Level Physiological Profiling Analysis ». *International Journal of Chemical Engineering* 2010: 1-6. <https://doi.org/10.1155/2010/490240>.
- Chen, B., J. Xu, H. Lu, et L. Zhu. 2023. « Remediation of Benzo[a]Pyrene Contaminated Soils by Moderate Chemical Oxidation Coupled with Microbial Degradation ». *Science of The Total Environment* 871: 161801. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161801>.
- Chen, F., M. Tan, J. Ma, S. Zhang, G. Li, et J. Qu. 2016. « Efficient Remediation of PAH-Metal Co-Contaminated Soil Using Microbial-Plant Combination: A Greenhouse Study ». *Journal of Hazardous Materials* 302: 250-61. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.09.068>.
- Chen, H-J., D-H. Tseng, et S-L. Huang. 2005. « Biodegradation of Octylphenol Polyethoxylate Surfactant Triton X-100 by Selected Microorganisms ». *Bioresource Technology* 96 (13): 1483-91. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.11.013>.
- Chen, Y., Y. Wen, Z. Tang, J. Huang, Q. Zhou, et J. Vymazal. 2015. « Effects of Plant Biomass on Bacterial Community Structure in Constructed Wetlands Used for Tertiary Wastewater Treatment ». *Ecological Engineering* 84: 38-45. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.07.013>.
- Cheng, G., M. Sun, J. Lu, X. Ge, H. Zhang, X. Xu, L. Lou, et Q. Lin. 2017. « Role of Biochar in Biodegradation of Nonylphenol in Sediment: Increasing Microbial Activity versus Decreasing Bioavailability ». *Scientific Reports* 7 (1): 4726. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04787-2>.
- Cheng, J., Y. Liu, Q. Wan, L. Yuan, et X. Yu. 2018. « Degradation of Dibutyl Phthalate in Two Contrasting Agricultural Soils and Its Long-Term Effects on Soil Microbial Community ». *Science of The Total Environment* 640-641: 821-29. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.336>.
- Chesapeake Bay Program. 2021. « Phragmites Australis ». 2021. <https://www.chesapeakebay.net/discover/field-guide/entry/phragmites>.
- Cheviron, N., V. Grondin, et C. Marraud. 2015. « Activités enzymatiques dans les sols ». In , 21. https://hal.science/hal-01603764v1/file/8.Activit%C3%A9s%20enzymatiques%20dans%20les%20sols_Nathalie-Cheviron-ppt_1.pdf.
- Chocat, B. 2008. « Etat de l'art sur la gestion urbaine des eaux pluviales et leur valorisation ». Office International de l'Eau.
- Chocat, B., J-L. Bertrand-Krajewski, et Sylvie Barraud. 2007. « Eaux pluviales urbaines et rejets urbains par temps de pluie ». *Technologies de l'eau*. <https://doi.org/10.51257/a-v1-w6800>.
- Chocat, B., F. Cherqui, B. Afrit, G. Barjot, M. Boumahdi, P. Breil, E. Brelot, et al. 2022. « Contribution à une meilleure explicitation du vocabulaire dans le domaine des solutions dites « alternatives » de gestion des eaux pluviales urbaines: Contribution to a better understanding of the terminology in the field of sustainable solutions for urban stormwater management ». *Techniques Sciences Méthodes* 5 (5): 103-19. <https://doi.org/10.36904/tsm/202205103>.
- Cladière, M. 2012. « Sources, transfert et devenir des alkylphénols et du bisphénol A dans le bassin amont de la Seine: cas de la région Île-de-France ». Thèse de doctorat, 2007-2015, France: Université Paris-Est. https://www.leesu.fr/opur/IMG/pdf/presentation_these_MC_AESN-1.pdf.

- Clairmont, L. K., et R. M. Slawson. 2020. « Contrasting Water Quality Treatments Result in Structural and Functional Changes to Wetland Plant-Associated Microbial Communities in Lab-Scale Mesocosms ». *Microbial Ecology* 79 (1): 50-63. <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01389-5>.
- Clara, M., G. Windhofer, W. Hartl, K. Braun, M. Simon, O. Gans, C. Scheffknecht, et A. Chovanec. 2010. « Occurrence of Phthalates in Surface Runoff, Untreated and Treated Wastewater and Fate during Wastewater Treatment ». *Chemosphere* 78 (9): 1078-84. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.12.052>.
- Clozel, B., V. Ruban, C. Durand, et P. Conil. 2006. « Origin and Mobility of Heavy Metals in Contaminated Sediments from Retention and Infiltration Ponds ». *Applied Geochemistry* 21 (10): 1781-98. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2006.06.017>.
- Coleman, D. C. 2008. « From Peds to Paradoxes: Linkages between Soil Biota and Their Influences on Ecological Processes ». *Soil Biology and Biochemistry* 40 (2): 271-89. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.08.005>.
- Comision Européenne. 2022. DÉCISION (UE) 2022/1244 DE LA COMMISSION du 13 juillet 2022 établissant les critères pour l'attribution du label écologique de l'Union européenne aux milieux de culture et aux amendements pour sols. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32022D1244>.
- Cornu, S. 2000. « Extractions séquentielles et spéciation des éléments trace métalliques dans les sols naturels » 7 (3): 12.
- Corrales, J., L. A. Kristofco, W. B. Steele, B. S. Yates, C. S. Breed, E. S. Williams, et B. W. Brooks. 2015. « Global Assessment of Bisphenol A in the Environment: Review and Analysis of Its Occurrence and Bioaccumulation ». *Dose-Response* 13 (3): 1559325815598308. <https://doi.org/10.1177/1559325815598308>.
- Corvini, P. F. X., A. Schäffer, et D. Schlosser. 2006. « Microbial degradation of nonylphenol and other alkylphenols—Our evolving view ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 72 (2): 223-43. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0476-5>.
- Costello, D. M., E. W. Hartung, J. T. Stoll, et A. J. Jefferson. 2020. « Bioretention Cell Age and Construction Style Influence Stormwater Pollutant Dynamics ». *Science of The Total Environment* 712: 135597. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135597>.
- Coussy, S., N. Dubrac, C. Hulot, A. Billard, et S. Kaabouch. 2020. « Guide de valorisation hors site des terres excavées issues de sites et sols potentiellement pollués dans des projets d'aménagement ». *Ministère de la Transition écologique et Solidaire*. <https://ssp-infoterre.brgm.fr/fr/guide/valorisation-hors-site-tex>.
- Crafton, E., C. Pritchard, L. Guo, J. M. Senko, et T. J. Cutright. 2019. « Dynamics of Mn Removal in an Acid Mine Drainage Treatment System over 13 Years after Installation ». *Environmental Earth Sciences* 78 (1): 10. <https://doi.org/10.1007/s12665-018-8008-z>.
- Cui, Y., W. Zhang, H. Sun, W-M. Wu, et X. Zou. 2015. « Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Accumulation in Phragmites Australis Grown on Constructed Wetland for Sludge Stabilization ». *Journal of Residuals Science & Technology* 12 (4): 215-20. <https://doi.org/10.12783/issn.1544-8053/12/4/4>.
- Curl, E. A., et B. Truelove. 1986. *The Rhizosphere*. Advanced Series in Agricultural Sciences 15. Berlin Heidelberg: Springer.
- Davis, A. P. 2007. « Field Performance of Bioretention: Water Quality ». *Environmental Engineering Science* 24 (8): 1048-64. <https://doi.org/10.1089/ees.2006.0190>.
- De Weert, J., M. Viñas, T. Grotenhuis, H. Rijnaarts, et A. Langenhoff. 2009. « Aerobic nonylphenol degradation and nitro-nonylphenol formation by microbial cultures from sediments. » *Applied Microbiology and Biotechnology* 86(2): 761-71. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2394-9>.
- Dechesne, M., S. Barraud, et J-P. Bardin. 2004. « Spatial Distribution of Pollution in an Urban Stormwater Infiltration Basin ». *Journal of Contaminant Hydrology* 72 (1): 189-205. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2003.10.011>.
- . 2005. « Experimental Assessment of Stormwater Infiltration Basin Evolution ». *Journal of Environmental Engineering* 131 (7): 1090-98. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(2005\)131:7\(1090\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(2005)131:7(1090)).
- Deeb, M., P. M. Groffman, J. L. Joyner, G. Lozefski, A. Paltseva, B. Lin, K. Mania, et al. 2018. « Soil and microbial properties of green infrastructure stormwater management systems ». *Ecological Engineering* 125: 68-75. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.10.017>.
- Deshayes, S. 2015. « Identification des sources de phtalates et d'alkylphénols (polluants émergents) en milieu urbain et compréhension des processus d'élimination ». Thèse de doctorat, Université Paris-Est. <https://pastel.archives-ouvertes.fr/tel-01300742/document>.
- Deshayes, S., J. Fabure, D. Tedoldi, S. Troesch, P. Branchu, et M. Bonnet. 2017. « Déversoir d'orage Bugeaud - Etude pour l'optimisation de la constitution du filtre et définition des moyens de suivi de son fonctionnement ».
- Deshayes, S., J. Gasperi, et M-C. Gromaire. 2016. « ROULÉPUR maîtrise de la contamination des eaux de ruissellement de voirie et parking ».
- Desta, A. F., F. Assefa, S. Leta, F. Stomeo, M. Wamalwa, M. Njahira, et D. Appolinaire. 2014. « Microbial Community Structure and Diversity in an Integrated System of Anaerobic-Aerobic Reactors and a Constructed Wetland for the Treatment of Tannery Wastewater in Modjo, Ethiopia ». Édité par Z. Zhou. *PLoS ONE* 9 (12): e115576. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115576>.
- Dettenmaier, E. M., W. J. Doucette, et B. Bugbee. 2009. « Chemical Hydrophobicity and Uptake by Plant Roots ». *Environmental Science & Technology* 43 (2): 324-29. <https://doi.org/10.1021/es801751x>.
- DiBlasi, C. J., H. Li, A. P. Davis, et U. Ghosh. 2009. « Removal and Fate of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Pollutants in an Urban Stormwater Bioretention Facility ». *Environmental Science & Technology* 43 (2): 494-502. <https://doi.org/10.1021/es802090g>.
- Dietz, M. E., et J. C. Clausen. 2005. « A Field Evaluation of Rain Garden Flow and Pollutant Treatment ». *Water, Air, and Soil Pollution* 167 (1-4): 123-38. <https://doi.org/10.1007/s11270-005-8266-8>.

- Ding, Z., et Q. Sun. 2021. « Effects of Flooding Depth on Metal(Loid) Absorption and Physiological Characteristics of Phragmites Australis in Acid Mine Drainage Phytoremediation ». *Environmental Technology & Innovation* 22: 101512. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101512>.
- Dinno, A. 2017. « conover.test: Conover-Iman Test of Multiple Comparisons Using Rank Sums ». <https://cran.r-project.org/web/packages/conover.test/index.html>.
- Dodgen, L. K., J. Li, D. Parker, et J. J. Gan. 2013. « Uptake and Accumulation of Four PPCP/EDCs in Two Leafy Vegetables ». *Environmental Pollution* 182: 150-56. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.06.038>.
- Dodgen, L. K., J. Li, X. Wu, Z. Lu, et J. J. Gan. 2014. « Transformation and Removal Pathways of Four Common PPCP/EDCs in Soil ». *Environmental Pollution* 193: 29-36. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.06.002>.
- Domene, X., S. Chelinho, et J. P. Sousa. 2010. « Effects of Nonylphenol on a Soil Community Using Microcosms ». *Journal of Soils and Sediments* 10 (3): 556-67. <https://doi.org/10.1007/s11368-009-0167-9>.
- Dorn, P., C. Chou, et J. Gentempo. 1987. « Degradation of Bisphenol A in Natural Waters ». *Chemosphere* 16 (7): 1501-7. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(87\)90090-7](https://doi.org/10.1016/0045-6535(87)90090-7).
- Dotro, G., G. Langergraber, P. Molle, J. Nivala, J. Puigagut, O. Stein, et M. von Sperling. 2017. *Treatment Wetlands*. IWA Publishing. <https://doi.org/10.2166/9781780408774>.
- Du, X., Y. Zhu, Q. Han, et Z. Yu. 2019. « The Influence of Traffic Density on Heavy Metals Distribution in Urban Road Runoff in Beijing, China ». *Environmental Science and Pollution Research* 26 (1): 886-95. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3685-4>.
- Duffus, J. H. 2002. « "Heavy Metals" - A Meaningless Term ? (IUPAC Technical Report) ». *Pure and Applied Chemistry* 74 (5): 793-807. <https://doi.org/10.1351/pac200274050793>.
- Dulio, V., et S. Andres. 2014. « Recommandations du Comité Experts Priorisation auprès du MEDDE pour la sélection des Substances Pertinentes à Surveiller dans les Milieux Aquatiques pour le Second Cycle de la DCE (2016-2021) ». Rapport AQUAREF 2013 – 102 p. https://professionnels.ofb.fr/sites/default/files/pdf/Aquaref2013_F1a_INERIS_Rapport%20CEP_subst%20pertinentes_VF.pdf.
- Duman, F., M. Cicek, et G. Sezen. 2007. « Seasonal Changes of Metal Accumulation and Distribution in Common Club Rush (*Schoenoplectus Lacustris*) and Common Reed (*Phragmites Australis*) ». *Ecotoxicology* 16 (6): 457-63. <https://doi.org/10.1007/s10646-007-0150-4>.
- Dunne, T., et L. B. Leopold. 1978. *Water in Environmental Planning*. Macmillan. SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/030913338000400216>.
- ECHA. 2012. « Support document for identification of 4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenol, ethoxylated1 as substances of very high concern because, due to their degradation to a substance of very high concern (4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenol) with endocrine disrupting properties, they cause probable serious effects to the environment which give rise to an equivalent level of concern to those of cmrs and pbts/vpvbs ».
- . 2013. « Support document for identification of 4-nonylphenol, branched and linear, ethoxylated as substances of very high concern because, due to their degradation to substances of very high concern (4-nonylphenol, branched and linear) with endocrine disrupting properties, they cause probable serious effects to the environment which give rise to an equivalent level of concern to those of cmr2 and pbt/vpvb3 substances ».
- . 2017. « Inclusion of Substances of Very High Concern in the Candidate List for Eventual Inclusion in Annex XIV (Decision of the European Chemicals Agency) ».
- . 2018. « Inclusion of Substances of Very High Concern in the Candidate List for Eventual Inclusion in Annex XIV (Decision of the European Chemicals Agency) ».
- . 2019. « Endocrine disrupting properties to be added for four phthalates in the Authorisation List ». 2019. <https://echa.europa.eu/fr/-/endocrine-disrupting-properties-to-be-added-for-four-phthalates-in-the-authorisation-list>.
- . 2023a. « 4-Nonylphenol (4-NP) Brief Profile ». 2023. <https://echa.europa.eu/fr/brief-profile/-/briefprofile/100.076.631>.
- . 2023b. « 4-Octylphenol (4-OP) Brief Profile ». 2023. <https://echa.europa.eu/fr/brief-profile/-/briefprofile/100.004.934>.
- . 2023c. « Bisphenol-A (BPA) Brief Profile ». ECHA. 2023. <https://echa.europa.eu/fr/brief-profile/-/briefprofile/100.001.133>.
- . 2023d. « Phtalates - ECHA ». 2023. <https://echa.europa.eu/fr/hot-topics/phthalates>.
- . 2017b. « MSC unanimously agrees that Bisphenol A is an endocrine disruptor - All news - ECHA ». 2017b. <https://echa.europa.eu/fr/-/msc-unanimously-agrees-that-bisphenol-a-is-an-endocrine-disruptor>.
- ECHA database. 2023. « ECHA Website ». 2023. <https://echa.europa.eu/fr/>.
- Egidi, E., M. Delgado-Baquerizo, J. M. Plett, J. Wang, D. J. Eldridge, R. D. Bardgett, F. T. Maestre, et B. K. Singh. 2019. « A Few Ascomycota Taxa Dominate Soil Fungal Communities Worldwide ». *Nature Communications* 10 (1): 2369. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10373-z>.
- Eio, E., M. Kawai, K. Tsuchiya, S. Yamamoto, et T. Toda. 2014. « Biodegradation of bisphenol A by bacterial consortia ». *International Biodeterioration & Biodegradation* 96: 166-73. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.09.011>.
- Eivazi, F., et M. A. Tabatabai. 1990. « Factors affecting glucosidase and galactosidase activities in soils ». *Soil Biology and Biochemistry* 22 (7): 891-97. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(90\)90126-K](https://doi.org/10.1016/0038-0717(90)90126-K).
- El Mekdad, F., N. Nunan, S. Abiven, et X. Raynaud. 2022. « Enzyme Activities Down the Soil Profile: A Meta-Analysis ». SSRN Scholarly Paper. Rochester, NY. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4239557>.
- Elder, D. J. E., et D. J. Kelly. 1994. « The Bacterial Degradation of Benzoic Acid and Benzenoid Compounds under Anaerobic Conditions: Unifying Trends and New Perspectives ». *FEMS Microbiology Reviews* 13 (4): 441-68. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1994.tb00061.x>.

- Elifantz, H., L. Kautsky, M. Mor-Yosef, J. Tarchitzky, A. Bar-Tal, Y. Chen, et D. Minz. 2011. « Microbial Activity and Organic Matter Dynamics During 4 Years of Irrigation with Treated Wastewater ». *Microbial Ecology* 62 (4): 973-81. <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9867-y>.
- Ema, M., R. Kurosaka, H. Amano, et Y. Ogawa. 1995. « Developmental Toxicity Evaluation of Mono-n-Butyl Phthalate in Rats ». *Toxicology Letters* 78 (2): 101-6. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(94\)03241-X](https://doi.org/10.1016/0378-4274(94)03241-X).
- Encyclopedia of Life. 2021. « Common reed - *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. » 2021. <https://eol.org/pages/1114576>.
- Environnement Canada et Santé Canada. 2015. « Rapport sur l'état des connaissances scientifiques - Partie 1 - Groupe de substances des phtalates : Esters phtaliques à chaîne moyenne - Numéros de registre du Chemical Abstracts Service 84-61-7, 84-64-0, 84-69-5, 523-31-9, 5334-09-8, 16883-83-3, 27215-22-1, 27987-25-3, 68515-40-2 et 71888-89-6. » Environnement Canada et Santé Canada : Programme des substances existantes.
- EPNAC. 2014. « Rôle des végétaux dans l'assainissement ». Epnac. 2014. <https://epnac.inrae.fr/role-des-vegetaux-dans-lassainissement/>.
- Esser, D., B. Ricard, T. Magnouloux, L. Daune, P. Tregouat, et J. M. Barbier. 2004. « Les filtres plantés de roseaux : application au traitement d'eaux pluviales ». In . http://www.sint.fr/pdf/novatech_gestion_des_eaux_urbaines.pdf.
- European Commission. 2020. « Guidance on the risk assessment of metabolites produced by microorganisms used as plant protection active substances ». https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-06/pesticides_ppp_app_proc_guide_180653_microorganism-metabolites-concern.pdf.
- . 2022. *Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council Concerning Urban Wastewater Treatment (Recast)*. https://environment.ec.europa.eu/publications/proposal-revised-urban-wastewater-treatment-directive_en.
- . 2023. *Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council on Soil Monitoring and Resilience (Soil Monitoring Law)*. <https://data.europa.eu/doi/10.2777/821504>.
- European Union et Council of the European Union. 2000. *Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=LEGISSUM%3A128002b>.
- . 2006. *Directive 2006/11/EC of the European Parliament and of the Council of 15 February 2006 on pollution caused by certain dangerous substances discharged into the aquatic environment of the Community (Codified version)*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/fr/ALL/?uri=CELEX:32006L0011>.
- . 2008. *Directive 2008/105/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 établissant des normes de qualité environnementale dans le domaine de l'eau, modifiant et abrogeant les directives du Conseil 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE, 86/*. <https://aida.ineris.fr/reglementation/directive-ndeg-2008105ce-161208-etablissant-normes-qualite-environnementale-domaine>.
- . 2013. *Directive 2013/39/UE Du Parlement Européen et Du Conseil Du 12 Août 2013 Modifiant Les Directives 2000/60/CE et 2008/105/CE En Ce Qui Concerne Les Substances Prioritaires Pour La Politique Dans Le Domaine de l'eau*. OJ L. Vol. 226. <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000028022376&categorieLien=id>.
- Fabre, N. 2014. « Utilisation de l'atp-métrie pour gérer en temps réel la qualité microbiologique des réseaux d'eau sanitaire des établissements de santé ». *Cahiers de l'Association Scientifique Européenne pour l'Eau et la Santé* 19: 6. <https://doi.org/10.1051/asees/2016005>.
- Faith, D. P. 1992. « Conservation Evaluation and Phylogenetic Diversity ». *Biological Conservation* 61 (1): 1-10. [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(92\)91201-3](https://doi.org/10.1016/0006-3207(92)91201-3).
- Faulwetter, J. L., V. Gagnon, C. Sundberg, F. Chazarenc, M. D. Burr, J. Brisson, A. K. Camper, et O. R. Stein. 2009. « Microbial Processes Influencing Performance of Treatment Wetlands: A Review ». *Ecological Engineering* 35 (6): 987-1004. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.12.030>.
- Federal Interagency Stream Restoration Working Group (FISRWG). 1998. *Stream Corridor Restoration: Principles, Processes, and Practices*. National Technical Info Svc. American Society of Civil Engineers. <https://ascelibrary.org/doi/10.1061/40382%281998%2955>.
- Fent, G., W. Hein, M. Moendel, et R. Kubiak. 2003. « Fate of 14C-bisphenol A in soils ». *Chemosphere* 51 (8): 735-46. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00100-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00100-0).
- Ferro Orozco, A. M., C. C. Lobo, E. M. Contreras, et N. E. Zaritzky. 2013. « Biodegradation of Bisphenol-A (BPA) in Activated Sludge Batch Reactors: Analysis of the Acclimation Process ». *International Biodeterioration & Biodegradation* 85: 392-99. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.09.005>.
- Fierer, N., M. Bradford, et R. Jackson. 2007. « Toward an Ecological Classification of Soil Bacteria ». *Ecology* 88 (6): 1354-64. <https://doi.org/10.1890/05-1839>.
- Fierer, N., M. Strickland, D. Liptzin, M. Bradford, et C. Cleveland. 2009. « Global Patterns in Belowground Communities ». *Ecology Letters* 12 (11): 1238-49. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01360.x>.
- Flanagan, K., G-T. Blecken, H. Österlund, K. Nordqvist, et M. Viklander. 2021. « Contamination of Urban Stormwater Pond Sediments: A Study of 259 Legacy and Contemporary Organic Substances ». *Environmental Science & Technology* 55 (5): 3009-20. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c07782>.
- Flanagan, K., P. Branchu, L. Boudahmane, E. Caupos, D. Demare, S. Deshayes, P. Dubois, et al. 2018. « Field Performance of Two Biofiltration Systems Treating Micropollutants from Road Runoff ». *Water Research* 145: 562-78. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.08.064>.
- . 2019a. « Retention and transport processes of particulate and dissolved micropollutants in stormwater biofilters treating road runoff ». *Science of The Total Environment* 656: 1178-90. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.304>.

- Flanagan, K., P. Branchu, L. Boudahmane, E. Caupos, D. Demare, St. Deshayes, P. Dubois, et al. 2019b. « Stochastic Method for Evaluating Removal, Fate and Associated Uncertainties of Micropollutants in a Stormwater Biofilter at an Annual Scale ». *Water* 11 (3): 487. <https://doi.org/10.3390/w11030487>.
- Flanagan, K., D. Tedoldi, P. Branchu, et M. C. Gromaire. 2017. « Caractérisation du fonctionnement d'un ouvrage de gestion à la source du ruissellement de voirie : approche par modélisation hydrologique et par cartographie de la contamination du sol » 103 (3): 5-13. <https://doi.org/10.1051/lhb/2017016>.
- Fletcher, T. D., W. Shuster, W. F. Hunt, R. Ashley, D. Butler, S. Arthur, S. Trowsdale, et al. 2015. « SUDS, LID, BMPs, WSUD and More – The Evolution and Application of Terminology Surrounding Urban Drainage ». *Urban Water Journal* 12 (7): 525-42. <https://doi.org/10.1080/1573062X.2014.916314>.
- Font Nájera, A., L. Serwecińska, S. Szklarek, et J. Mankiewicz-Boczek. 2020. « Characterization and Comparison of Microbial Communities in Sequential Sedimentation-Biofiltration Systems for Removal of Nutrients in Urban Rivers ». *Ecological Engineering* 149: 105796. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2020.105796>.
- Fouchécourt, M-O., M. Beausoleil, L. Lefebvre, M. Valcke, J-C. Belles-Isles, et M. Trépanier. 2005. « Validation des critères B et C de la Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés - Protection de la santé humaine - Rapport scientifique ». Canada: Direction risques biologiques, environnementaux et occupationnels - Institut national de santé publique, Québec. <https://www.inspq.qc.ca/es/node/2431>.
- Foulquier, A., B. Volat, M. Neyra, G. Bornette, et B. Montuelle. 2013. « Long-Term Impact of Hydrological Regime on Structure and Functions of Microbial Communities in Riverine Wetland Sediments ». *FEMS Microbiology Ecology* 85 (2): 211-26. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12112>.
- Fournel, J. 2012. « SYSTEMES EXTENSIFS DE GESTION ET DE TRAITEMENT DES EAUX URBAINES DE TEMPS DE PLUIE ». <https://www.theses.fr/2012MON2011>.
- Fournier, T. 2021. « Effets des phtalates sur le développement et les fonctions placentaires : impact sur la grossesse et la croissance fœtale ». In .
- Fraser, A., Y. Zhang, E. Sakowski, et S. Preheim. 2018. « Dynamics and Functional Potential of Stormwater Microorganisms Colonizing Sand Filters ». *Water* 10 (8): 1065. <https://doi.org/10.3390/w10081065>.
- Fu, G., L. Huangshen, Z. Guo, Q. Zhou, et Z. Wu. 2017. « Effect of Plant-Based Carbon Sources on Denitrifying Microorganisms in a Vertical Flow Constructed Wetland ». *Bioresource Technology* 224: 214-21. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.007>.
- Fu, G., J. Wu, J. Han, L. Zhao, G. Chan, et K. Leong. 2020. « Effects of Substrate Type on Denitrification Efficiency and Microbial Community Structure in Constructed Wetlands ». *Bioresource Technology* 307: 123222. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123222>.
- Fukuda, K., M. Ogawa, H. Taniguchi, et M. Saito. 2016. « Molecular Approaches to Studying Microbial Communities: Targeting the 16S Ribosomal RNA Gene ». *Journal of UOEH* 38 (3): 223-32. <https://doi.org/10.7888/juoeh.38.223>.
- Funke Gruppe. 2020. « D-Rainclean® - Traitement des eaux pluviales avant infiltration. Avis technique du DIBT ». https://www.funkefrance.fr/fileadmin/pdf/prospekte_FR/Funke-France-D-Rainclean-brochure-03-2020.pdf.
- Gao, D-W., et Z-D. Wen. 2016. « Phthalate Esters in the Environment: A Critical Review of Their Occurrence, Biodegradation, and Removal during Wastewater Treatment Processes ». *Science of The Total Environment* 541: 986-1001. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.148>.
- Garland, J. L. 1996. « Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization. » *Soil Biol Biochem* 28(2): 213-21. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(95\)00112-3](https://doi.org/10.1016/0038-0717(95)00112-3).
- Garland, J. L., et A. L. Mills. 1991a. « Classification and Characterization of Heterotrophic Microbial Communities on the Basis of Community-Level Sole-Carbon-Source Utilization. » *Appl environ microbiol* 57(8): 2351-59. <https://doi.org/10.1128/aem.57.8.2351-2359.1991>.
- . 1991b. « Classification and Characterization of Heterotrophic Microbial Communities on the Basis of Patterns of Community-Level Sole-Carbon-Source Utilization ». *Applied and Environmental Microbiology* 57 (8): 2351-59. <https://doi.org/10.1128/aem.57.8.2351-2359.1991>.
- Gasperi, J., S. Garnaud, V. Rocher, et R. Moilleron. 2010. « Polluants prioritaires dans les rejets urbains de temps de pluie : cas de la ville de Paris ». Paris, France. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01115309>.
- Gasperi, J., J. Le Roux, S. Deshayes, S. Ayrault, L. Bordier, L. Boudahmane, H. Budzinski, et al. 2022. « Micropollutants in Urban Runoff from Traffic Areas: Target and Non-Target Screening on Four Contrasted Sites ». *Water* 14 (3): 394. <https://doi.org/10.3390/w14030394>.
- Gasperi, J., C. Sebastian, V. Ruban, M. Delamain, S. Percot, L. Wiest, C. Mirande, et al. 2014. « Micropollutants in Urban Stormwater: Occurrence, Concentrations, and Atmospheric Contributions for a Wide Range of Contaminants in Three French Catchments ». *Environmental Science and Pollution Research* 21 (8): 5267-81. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2396-0>.
- Gavrić, S., K. Flanagan, H. Wei, H. Österlund, L. Lundy, et M. Viklander. 2023. « Accumulation and Contamination of Gully Pot Sediments from Varied Land-Use Types: Metal Loads, Concentrations and Speciation ». *Environmental Science and Pollution Research* 30 (50): 109825-40. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-30062-1>.
- Geronimo, F. K., H. Guerra, M. Jeon, N. J. Reyes, et L-H. Kim. 2022. « Influence of Bacterial Community to the Water Quality Performance of Urban Stormwater Nature-Based Solutions ». *Ecological Engineering* 183: 106761. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2022.106761>.
- Giger, W., F. Gabriel, N. Jonkers, et H-P Kohler. 2009. « Environmental fate of phenolic endocrine disruptors: Field and laboratory studies ». *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 367: 3941-63. <https://doi.org/10.1098/rsta.2009.0148>.
- Gikas, G. D., V. A. Papaevangelou, V. A. Tshirintzis, M. Antonopoulou, et I. K. Konstantinou. 2021. « Removal of Emerging Pollutants in Horizontal Subsurface Flow and Vertical Flow Pilot-Scale Constructed Wetlands ». *Processes* 9 (12): 2200. <https://doi.org/10.3390/pr9122200>.

- Gilbert, N., R. Fulthorpe, et A. E. Kirkwood. 2012. « Microbial Diversity, Tolerance, and Biodegradation Potential of Urban Wetlands with Different Input Regimes ». *Canadian Journal of Microbiology* 58 (7): 887-97. <https://doi.org/10.1139/w2012-066>.
- Gill, A. S., A. Lee, et K. L. McGuire. 2017b. « Phylogenetic and Functional Diversity of Total (DNA) and Expressed (RNA) Bacterial Communities in Urban Green Infrastructure Bioswale Soils ». Édité par A. J. M. Stams. *Applied and Environmental Microbiology* 83 (16). <https://doi.org/10.1128/AEM.00287-17>.
- Gill, A. S., K. Purnell, M. I. Palmer, J. Stein, et K. L. McGuire. 2020. « Microbial Composition and Functional Diversity Differ Across Urban Green Infrastructure Types ». *Frontiers in Microbiology* 11: 912. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00912>.
- Gill, L. W., P. Ring, B. Casey, N. M. P. Higgins, et P. M. Johnston. 2017. « Long Term Heavy Metal Removal by a Constructed Wetland Treating Rainfall Runoff from a Motorway ». *Science of The Total Environment* 601-602: 32-44. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.182>.
- Gill, L. W., P. Ring, N. M. P. Higgins, et P. M. Johnston. 2014. « Accumulation of Heavy Metals in a Constructed Wetland Treating Road Runoff ». *Ecological Engineering* 70: 133-39. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.03.056>.
- Giller, K., E. Witter, et S. McGrath. 2009. « Heavy Metals and Soil Microbes ». *Soil Biology and Biochemistry* 41 (10): 2031-37. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.04.026>.
- Girard, M-C., C. Walter, J-C. Rémy, J. Berthelin, et J-L. Morel. 2011. *Sols et environnement - 2e édition*. Dunod.
- Giroud, V., D. Esser, L. Fournet, et F. Davoli. 2007. « Les filtres plantés de roseaux pour le traitement des eaux pluviales: Notion d'efficacité ». In .
- Gispert, M., M. Emran, G. Pardini, S. Doni, et B. Ceccanti. 2013. « The Impact of Land Management and Abandonment on Soil Enzymatic Activity, Glomalin Content and Aggregate Stability ». *Geoderma* 202-203: 51-61. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.03.012>.
- Gobat, J-M., M. Aragno, et W. Matthey. 2010. *Le sol vivant: bases de pédologie, biologie des sols*. PPUR Presses polytechniques.
- Göbel, P., C. Dierkes, et W. G. Coldewey. 2007. « Storm Water Runoff Concentration Matrix for Urban Areas ». *Journal of Contaminant Hydrology* 91 (1-2): 26-42. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2006.08.008>.
- Godden, B. 1998. « L'activité microbiologique des sols ». https://abiodoc.docressources.fr/doc_num.php?explnum_id=2302.
- Godin, A. M., K. K. Lidher, M. D. Whiteside, et M. D. Jones. 2015. « Control of Soil Phosphatase Activities at Millimeter Scales in a Mixed Paper Birch – Douglas-Fir Forest: The Importance of Carbon and Nitrogen ». *Soil Biology and Biochemistry* 80: 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.09.022>.
- Gomez, E., L. Ferreras, et S. Toresani. 2006. « Soil bacterial functional diversity as influenced by organic amendment application. » *Bioresource Technology* 97(13): 1484-89. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.06.021>.
- Great Lakes Phragmites Collaborative. 2017. « Phragmites' Annual Cycle and Associated Management Actions ». 2017. <https://www.greatlakesphragmites.net/blog/phragmites-annual-cycle-and-associated-management-actions/>.
- Green, V. S., D. E. Stott, et M. Diack. 2006. « Assay for Fluorescein Diacetate Hydrolytic Activity: Optimization for Soil Samples ». *Soil Biology and Biochemistry* 38 (4): 693-701. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.06.020>.
- Griffiths, B. S., et L. Philippot. 2013. « Insights into the Resistance and Resilience of the Soil Microbial Community ». *FEMS Microbiology Reviews* 37 (2): 112-29. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00343.x>.
- Gromaire, M-C., S. Garnaud, A. Gonzalez, et G. Chebbo. 1999. « Characterisation of urban runoff pollution in Paris ». *Water Science and Technology*, Innovative Technologies in Urban Storm Drainage 1998 (Novatech '98), 39 (2): 1-8. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(99\)00002-5](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(99)00002-5).
- Gromaire, M-C., L. Veiga, M. Grimaldi, et N. Aires. 2013. « Outils de bonne gestion des eaux de ruissellement en zones urbaines | Eau dans la ville ». Agence de l'Eau Seine Normandie. http://www.eau-seine-normandie.fr/sites/public_file/docutheque/2017-03/Document_d_orientation_bonne_gestion.pdf.
- Gu, X., Y. Zhang, J. Zhang, M. Yang, H. Tamaki, Y. Kamagata, et D. Li. 2010. « Isolation of Phylogenetically Diverse Nonylphenol Ethoxylate-Degrading Bacteria and Characterization of Their Corresponding Biotransformation Pathways ». *Chemosphere* 80 (3): 216-22. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.04.044>.
- Guan, W., M. Yin, T. He, et S. Xie. 2015. « Influence of Substrate Type on Microbial Community Structure in Vertical-Flow Constructed Wetland Treating Polluted River Water ». *Environmental Science and Pollution Research* 22 (20): 16202-9. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5160-9>.
- Gucker, et L. Corey. 2008. « Phragmites australis ». 2008. <https://www.fs.fed.us/database/feis/plants/graminoid/phraus/all.html>.
- Guenet, B., K. Lenhart, J. Leloup, S. Giusti-Miller, V. Pouteau, P. Mora, N. Nunan, et L. Abbadie. 2012. « The Impact of Long-Term CO2 Enrichment and Moisture Levels on Soil Microbial Community Structure and Enzyme Activities ». *Geoderma* 170: 331-36. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2011.12.002>.
- Guenther, K., E. Kleist, et B. Thiele. 2006. « Estrogen-Active Nonylphenols from an Isomer-Specific Viewpoint: A Systematic Numbering System and Future Trends ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 384 (2): 542-46. <https://doi.org/10.1007/s00216-005-0181-8>.
- Gulding, W. 2023. « Water Quality Improvement of Highway Runoff by the Filter Material D-Rainclean ». <https://www.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2%3A1732245&dswid=5074>.
- Guo, C., J. Li, H. Li, et Y. Li. 2019. « Influences of Stormwater Concentration Infiltration on Soil Nitrogen, Phosphorus, TOC and Their Relations with Enzyme Activity in Rain Garden ». *Chemosphere* 233: 207-15. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.236>.
- Guo, J., W. Xiong, J. Qiu, et G. Wang. 2023. « Linking Soil Organic Carbon Mineralization to Soil Physicochemical Properties and Bacterial Alpha Diversity at Different Depths Following Land Use Changes ». *Ecological Processes* 12 (1): 39. <https://doi.org/10.1186/s13717-023-00450-z>.

- Gupta, A., A. K. Patel, D. Gupta, G. Singh, et V. K. Mishra. 2020. « Rhizospheric Remediation of Organic Pollutants from the Soil; a Green and Sustainable Technology for Soil Clean Up ». In *Abatement of Environmental Pollutants*, 263-86. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818095-2.00013-8>.
- Haigh, S. D. 1996. « A Review of the Interaction of Surfactants with Organic Contaminants in Soil ». *Science of The Total Environment* 185 (1-3): 161-70. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(95\)05049-3](https://doi.org/10.1016/0048-9697(95)05049-3).
- Haritash, A. K., et C. P. Kaushik. 2009. « Biodegradation Aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A Review ». *Journal of Hazardous Materials* 169 (1): 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.137>.
- Hawkes, C. V., S. N. Kivlin, J. D. Rocca, V. Huguet, M. A. Thomsen, et K. B. Suttle. 2011. « Fungal Community Responses to Precipitation: FUNGAL CLIMATE RESPONSE ». *Global Change Biology* 17 (4): 1637-45. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02327.x>.
- Hazarika, S. N., et D. Thakur. 2020. « Chapter 21 - Actinobacteria ». In *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*, édité par N. Amaran, M. Senthil Kumar, K. Annapurna, Krishna Kumar, et A. Sankaranarayanan, 443-76. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00021-6>.
- He, R., J. Zeng, D. Zhao, R. Huang, Z. Yu, et Q. L. Wu. 2020. « Contrasting Patterns in Diversity and Community Assembly of Phragmites Australis Root-Associated Bacterial Communities from Different Seasons ». Édité par G. Alexandre. *Applied and Environmental Microbiology* 86 (14): e00379-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.00379-20>.
- He, Y., J. Xu, C. Tang, et Y. Wu. 2005. « Facilitation of Pentachlorophenol Degradation in the Rhizosphere of Ryegrass (*Lolium Perenne* L.) ». *Soil Biology and Biochemistry* 37 (11): 2017-24. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.03.002>.
- Headley, T. R., D. O. Huett, et L. Davison. 2001. « The Removal of Nutrients from Plant Nursery Irrigation Runoff in Subsurface Horizontal-Flow Wetlands ». *Water Science and Technology* 44 (11-12): 77-84. <https://doi.org/10.2166/wst.2001.0812>.
- Helsel, D. R. 2011. *Statistics for Censored Environmental Data Using Minitab and R*. John Wiley & Sons.
- Henkinet, R., M-M. Couteaux, G. Billes, P. Bottner, et L. Palka. 1989. « Acceleration du turnover du carbone et stimulation du priming effect par la predation dans un humus forestier ». *Soil Biology and Biochemistry* 22 (4): 555-61. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(90\)90193-4](https://doi.org/10.1016/0038-0717(90)90193-4).
- Hinsinger, P., C. Plassard, C. Tang, et B. Jaillard. 2003. « Origins of Root-Mediated pH Changes in the Rhizosphere and Their Responses to Environmental Constraints: A Review ». *Plant and Soil* 248: 43-59. <https://doi.org/10.1023/A:1022371130939>.
- Hong, E., E. A. Seagren, et A. P. Davis. 2006. « Sustainable Oil and Grease Removal from Synthetic Stormwater Runoff Using Bench-Scale Bioretention Studies ». *Water Environment Research: A Research Publication of the Water Environment Federation* 78 (2): 141-55. <https://doi.org/10.2175/106143005x89607>.
- Hong, J., F. K. Geronimo, H. Choi, et L-H. Kim. 2018. « Impacts of Nonpoint Source Pollutants on Microbial Community in Rain Gardens ». *Chemosphere* 209: 20-27. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.062>.
- HongE, Y., Z. Wan, Y. Kim, et J. Yu. 2022. « Submerged Zone and Vegetation Drive Distribution of Heavy Metal Fractions and Microbial Community Structure: Insights into Stormwater Biofiltration System ». *Science of The Total Environment* 853: 158367. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158367>.
- Hseu, Z-Y. 2006. « Response of Microbial Activities in Two Contrasting Soils to 4-Nonylphenol Treated with Biosolids ». *Chemosphere* 64 (10): 1769-76. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.12.042>.
- Hsieh, C. Y., E. T. Liaw, et K. M. Fan. 2015. « Removal of veterinary antibiotics, alkylphenolic compounds, and estrogens from the Wuluo constructed wetland in southern Taiwan ». *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 50 (2): 151-60. <https://doi.org/10.1080/10934529.2015.975062>.
- Huang, J-H., S. Paul, S. Mayer, E. Moradpour, R. Hasselbach, R. Gieré, et C. Alewell. 2017. « Metal Biogeochemistry in Constructed Wetlands Based on Fluvial Sand and Zeolite- and Clinopyroxene-Dominated Lava Sand ». *Scientific Reports* 7 (1): 2981. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03055-7>.
- Huang, R., J. Zeng, D. Zhao, K. V. Cook, K. D. Hambright, et Z. Yu. 2020. « Sediment Microbiomes Associated with the Rhizosphere of Emergent Macrophytes in a Shallow, Subtropical Lake ». *Limnology and Oceanography* 65 (S1). <https://doi.org/10.1002/lno.11325>.
- Huang, S-L., H. Chen, A. Hu, N. N. Tuan, et C-P. Yu. 2014. « Draft Genome Sequence of *Pseudomonas Nitroreducens* Strain TX1, Which Degrades Nonionic Surfactants and Estrogen-Like Alkylphenols ». *Genome Announcements* 2 (1): e01262-13. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01262-13>.
- Huang, Y-H., Y-J. Yang, X. Wu, C-L. Zhu, H. Lü, H-M. Zhao, L. Xiang, et al. 2023. « Adaptation of Bacterial Community in Maize Rhizosphere for Enhancing Dissipation of Phthalic Acid Esters in Agricultural Soil ». *Journal of Hazardous Materials* 444: 130292. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130292>.
- Huber, M., A. Welker, et B. Helmreich. 2016. « Critical Review of Heavy Metal Pollution of Traffic Area Runoff: Occurrence, Influencing Factors, and Partitioning ». *Science of The Total Environment* 541: 895-919. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.033>.
- Ike, M., M. Chen, C. Jin, et M. Fujita. 2002. « Acute toxicity, mutagenicity, and estrogenicity of biodegradation products of bisphenol-A ». *Environmental Toxicology* 17: 457-61. <https://doi.org/10.1002/tox.10079>.
- Im, J., et F. E. Löffler. 2016. « Fate of Bisphenol A in Terrestrial and Aquatic Environments ». *Environmental Science & Technology* 50 (16): 8403-16. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00877>.
- Imfeld, G., M. Braeckevelt, P. Kuschik, et H. H. Richnow. 2009. « Monitoring and Assessing Processes of Organic Chemicals Removal in Constructed Wetlands ». *Chemosphere* 74 (3): 349-62. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.09.062>.
- INERIS database. 2023. « INERIS - Portail Substances Chimiques, accueil ». 2023. <https://substances.ineris.fr/fr/>.
- INSERM. 2011. *Reproduction et environnement*. INSERM.

- INSURE. 2017. « EQS LIMIT AND GUIDELINE VALUES FOR CONTAMINATED SITES ». Suède. https://www.meteo.lv/fs/CKFinderJava/userfiles/files/EQS_limit_and_guideline_values.pdf.
- International Organization for Standardization. 1994. « ISO 11266:1994. Qualité du sol — Lignes directrices relatives aux essais en laboratoire pour la biodégradation de produits chimiques organiques dans le sol sous conditions aérobies ». <https://www.iso.org/fr/standard/19244.html>.
- Istenič, D., C. A. Arias, V. Matamoros, J. Vollertsen, et H. Brix. 2011. « Elimination and Accumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Urban Stormwater Wet Detention Ponds ». *Water Science and Technology* 64 (4): 818-25. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.525>.
- Jaccard, P. 1901. « Étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et des Jura. », *Bull Soc Vaudoise Sci Nat* 37: 547-79.
- Janssen, P. H. 2006. « Identifying the Dominant Soil Bacterial Taxa in Libraries of 16S rRNA and 16S rRNA Genes ». <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.1719-1728.2006>.
- Jarvis, B., C. Wilrich, et P-T. Wilrich. 2010. « Reconsideration of the Derivation of Most Probable Numbers, Their Standard Deviations, Confidence Bounds and Rarity Values: Derivation of MPNs and Their Parameters ». *Journal of Applied Microbiology* 109 (5): 1660-67. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04792.x>.
- Jeelani, N., W. Yang, H-L. Zhu, et S. An. 2020. « Phytoremediation for Co-Contaminated Soils of Cadmium and Pyrene Using *Phragmites Australis* (Common Reed) ». *International Journal of Phytoremediation* 22 (13): 1385-95. <https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1780411>.
- Jia, F., C. Lai, L. Chen, G. Zeng, D. Huang, F. Liu, X. Li, et al. 2017. « Spatiotemporal and Species Variations in Prokaryotic Communities Associated with Sediments from Surface-Flow Constructed Wetlands for Treating Swine Wastewater ». *Chemosphere* 185: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.06.132>.
- Jiang, C., J. Li, H. Li, et Y. Li. 2019b. « Nitrogen Retention and Purification Efficiency from Rainfall Runoff via Retrofitted Bioretention Cells ». *Separation and Purification Technology* 220: 25-32. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.03.036>.
- . 2019a. « Remediation and Accumulation Characteristics of Dissolved Pollutants for Stormwater in Improved Bioretention Basins ». *Science of The Total Environment* 685: 763-71. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.246>.
- Jiang, L., Y. Yang, Y. Zhang, Y. Liu, B. Pan, B. Wang, et Y. Lin. 2019c. « Accumulation and Toxicological Effects of Nonylphenol in Tomato (*Solanum Lycopersicum* L) Plants ». *Scientific Reports* 9 (1): 7022. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43550-7>.
- Jianlong, W., Z. Xuan, et W. Weizhong. 2004. « Biodegradation of Phthalic Acid Esters (PAEs) in Soil Bioaugmented with Acclimated Activated Sludge ». *Process Biochemistry* 39 (12): 1837-41. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2003.08.005>.
- Joergensen, R. G. 1996. « The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the kEC value. » *Soil Biology and Biochemistry* 28(1): 25-31. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(95\)00102-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(95)00102-6).
- John, D., et G. White. 1998. « Mechanism for Biotransformation of Nonylphenol Polyethoxylates to Xenoestrogens in *Pseudomonas Putida* ». *Journal of Bacteriology* 180: 4332-38. <https://doi.org/10.1128/jb.180.17.4332-4338.1998>.
- Johnson, J. P., et W. F. Hunt. 2016. « Evaluating the Spatial Distribution of Pollutants and Associated Maintenance Requirements in an 11 Year-Old Bioretention Cell in Urban Charlotte, NC ». *Journal of Environmental Management* 184: 363-70. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.10.009>.
- Jones, P. S., et A. P. Davis. 2013. « Spatial Accumulation and Strength of Affiliation of Heavy Metals in Bioretention Media ». *Journal of Environmental Engineering* 139 (4): 479-87. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000624](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000624).
- Jonkers, N., T. Knepper, et P. de Voogt. 2001. « Aerobic Biodegradation Studies of Nonylphenol Ethoxylates in River Water Using Liquid Chromatography–Electrospray Tandem Mass Spectrometry ». *Environmental Science & Technology* 35 (2): 335-40. <https://doi.org/10.1021/es000127o>.
- Jonkers, N., R. Laane, C. de Graaf, et P. de Voogt. 2005. « Fate modeling of nonylphenol ethoxylates and their metabolites in the Dutch Scheldt and Rhine estuaries: validation with new field data ». *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 62 (1): 141-60. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2004.08.014>.
- Julien, J-L., et D. Tessier. 2021. « Rôles du pH, de la CEC effective et des cations échangeables sur la stabilité structurale et l'affinité pour l'eau du sol ». *Etude et Gestion des Sols*.
- Kadlec, R. H., et Scott D. Wallace. 2009. *Treatment Wetlands*. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Kalmykova, Y., N. Moona, A-M. Strömvall, et K. Björklund. 2014. « Sorption and Degradation of Petroleum Hydrocarbons, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Alkylphenols, Bisphenol A and Phthalates in Landfill Leachate Using Sand, Activated Carbon and Peat Filters ». *Water Research* 56: 246-57. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.03.011>.
- Kandeler, E., et H. Gerber. 1988. « Short-Term Assay of Soil Urease Activity Using Colorimetric Determination of Ammonium ». *Biology and Fertility of Soils* 6 (1). <https://doi.org/10.1007/BF00257924>.
- Kane, S. R., A. Y. Chakicherla, P. S. G. Chain, R. Schmidt, M. W. Shin, T. C. Legler, K. M. Scow, et al. 2007. « Whole-Genome Analysis of the Methyl *Tert* -Butyl Ether-Degrading Beta-Proteobacterium *Methylibium Petroleiphilum* PM1 ». *Journal of Bacteriology* 189 (5): 1931-45. <https://doi.org/10.1128/JB.01259-06>.
- Kania, M. 2018. « Caractérisation des dépôts de surface des filtres plantés de roseaux à écoulement vertical. Rôle et évolution de la matière organique particulaire ». These de doctorat, Lyon. <https://www.theses.fr/2018LYSEI045>.
- Kania, M., M. Gautier, A. Imig, P. Michel, et R. Gourdon. 2019a. « Comparative Characterization of Surface Sludge Deposits from Fourteen French Vertical Flow Constructed Wetlands Sewage Treatment Plants Using Biological, Chemical and Thermal Indices ». *Science of The Total Environment* 647: 464-73. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.440>.

- . 2019b. « Comparative Characterization of Surface Sludge Deposits from Fourteen French Vertical Flow Constructed Wetlands Sewage Treatment Plants Using Biological, Chemical and Thermal Indices ». *Science of The Total Environment* 647: 464-73. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.440>.
- Kania, M., M. Gautier, S. Loupiac, P. Michel, et R. Gourdon. 2018. « Rôle de paramètres opérationnels et des substances organiques dans la structure physique des dépôts de surface des filtres plantés de roseaux à écoulement vertical ». *Environnement, Ingénierie & Développement* N°77-septembre 2018: 7761. <https://doi.org/10.4267/dechets-sciences-techniques.3808>.
- Kastratović, V., S. Krivokapić, D. Đurović, et N. Blagojević. 2013. « Seasonal changes in metal accumulation and distribution in the organs of *Phragmites australis* (common reed) from Lake Skadar, Montenegro ». *Journal of the Serbian Chemical Society* 78 (8): 241-1258. <https://doi.org/10.2298/JSC121026153K>.
- Katoh, K., et D. M. Standley. 2013. « MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability ». *Molecular Biology and Evolution* 30 (4): 772-80. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>.
- Kavlock, R., K. Boekelheide, R. Chapin, M. Cunningham, E. Faustman, P. Foster, M. Golub, et al. 2002. « NTP Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction: Phthalates Expert Panel Report on the Reproductive and Developmental Toxicity of Di(2-Ethylhexyl) Phthalate ». *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)* 16 (5): 529-653. [https://doi.org/10.1016/s0890-6238\(02\)00032-1](https://doi.org/10.1016/s0890-6238(02)00032-1).
- Kerstens, K., P. De Vos, M. Gillis, J. Swings, P. Vandamme, et E. Stackebrandt. 2006. « Introduction to the Proteobacteria ». In *The Prokaryotes: Volume 5: Proteobacteria: Alpha and Beta Subclasses*, édité par M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K-H. Schleifer, et E. Stackebrandt, 3-37. New York, NY: Springer. https://doi.org/10.1007/0-387-30745-1_1.
- Khalifa, M. E., Y. G. A. El-Reash, M. I. Ahmed, et F. W. Rizk. 2020. « Effect of Media Variation on the Removal Efficiency of Pollutants from Domestic Wastewater in Constructed Wetland Systems ». *Ecological Engineering* 143: 105668. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2019.105668>.
- Kim, B., M. Gautier, P. Michel, et R. Gourdon. 2013a. « Physical–Chemical Characterization of Sludge and Granular Materials from a Vertical Flow Constructed Wetland for Municipal Wastewater Treatment ». *Water Science and Technology* 68 (10): 2257-63. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.485>.
- . 2013b. « Physical–Chemical Characterization of Sludge and Granular Materials from a Vertical Flow Constructed Wetland for Municipal Wastewater Treatment ». *Water Science and Technology* 68 (10): 2257-63. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.485>.
- Kim, B., M. Gautier, C. Rivard, C. Sanglar, P. Michel, et R. Gourdon. 2015. « Effect of Aging on Phosphorus Speciation in Surface Deposit of a Vertical Flow Constructed Wetland ». *Environmental Science & Technology* 49 (8): 4903-10. <https://doi.org/10.1021/es506164v>.
- Kleerebezem, R. 1999. « Anaerobic Biodegradability of Phthalic Acid Isomers and Related Compounds » 10: 12. <https://doi.org/10.1023/A:1008321015498>.
- Klink, A., M. Dambiec, et L. Polechońska. 2019. « Trace Metal Speciation in Sediments and Bioaccumulation in *Phragmites Australis* as Tools in Environmental Pollution Monitoring ». *International Journal of Environmental Science and Technology* 16 (12): 7611-22. <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02305-7>.
- Kluge, B., A. Markert, M. Facklam, H. Sommer, M. Kaiser, M. Pallasch, et G. Wessolek. 2018. « Metal Accumulation and Hydraulic Performance of Bioretention Systems after Long-Term Operation ». *Journal of Soils and Sediments* 18 (2): 431-41. <https://doi.org/10.1007/s11368-016-1533-z>.
- Kluge, B., M. Werkenthin, et G. Wessolek. 2014. « Metal Leaching in a Highway Embankment on Field and Laboratory Scale ». *Science of The Total Environment* 493: 495-504. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.120>.
- Knight, B. P., S. P. McGrath, et A. M. Chaudri. 1997. « Biomass Carbon Measurements and Substrate Utilization Patterns of Microbial Populations from Soils Amended with Cadmium, Copper, or Zinc ». *Applied and Environmental Microbiology* 63 (1): 39-43. <https://doi.org/10.1128/aem.63.1.39-43.1997>.
- Ko, D., G. Yoo, S-T. Yun, S-C. Jun, et H. Chung. 2017. « Bacterial and Fungal Community Composition across the Soil Depth Profiles in a Fallow Field ». *Journal of Ecology and Environment* 41 (1): 34. <https://doi.org/10.1186/s41610-017-0053-0>.
- Kolde, R. 2012. « Pheatmap: pretty heatmaps ». <https://CRAN.R-project.org/package=pheatmap>.
- Kolvenbach, B. A., et P. F. X. Corvini. 2012. « The degradation of alkylphenols by *Sphingomonas* sp. strain TTNP3 – a review on seven years of research ». *New Biotechnology, Frontiers and Challenges in the Bioremediation of Contaminated Sites*, 30 (1): 88-95. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2012.07.008>.
- Krämer, U. 2010. « Metal Hyperaccumulation in Plants ». *Annual Review of Plant Biology* 61 (1): 517-34. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112156>.
- Kravchenko, A., et D. G. Bullock. 1999. « A Comparative Study of Interpolation Methods for Mapping Soil Properties ». *Agronomy Journal* 91 (3): 393-400. <https://doi.org/10.2134/agronj1999.00021962009100030007x>.
- Kumar, N., D. Jaiswal, et J. Pandey. 2019. « EVALUATING ECOSYSTEM RESPONSES TO METAL POLLUTION IN THE GANGA RIVER USING FLUORESCCEIN DIACETATE HYDROLYTIC ». [https://plantarchives.org/19-2/3473-3481%20\(5780\).pdf](https://plantarchives.org/19-2/3473-3481%20(5780).pdf).
- Kumar, S., S. Chaudhuri, et S. K. Maiti. 2013. « Soil Dehydrogenase Enzyme Activity in Natural and Mine Soil - A Review ». *Middle-East Journal of Scientific Research*, 13(7), 898-906. 13 (7): 898-906. <https://doi.org/10.5829/idosi.mejsr.2013.13.7.2801>.
- Kuzikova, I. L., T. B. Zaytseva, A. A. Kichko, S. V. Zinoveva, A. D. Russu, N. V. Mayachkina, et N. G. Medvedeva. 2019. « Effect of Nonylphenols on the Abundance and Taxonomic Structure of the Soil Microbial Community ». *Eurasian Soil Science* 52 (6): 671-81. <https://doi.org/10.1134/S1064229319060073>.

- Kuzyakov, Y., et E. Blagodatskaya. 2015. « Microbial Hotspots and Hot Moments in Soil: Concept & Review ». *Soil Biology and Biochemistry* 83: 184-99. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.01.025>.
- Lamprea, K., C. Mirande-Bret, A. Bressy, et M-C. Gromaire. 2017. « Evaluation du potentiel d'émission d'alkylphénols et de bisphénol A par lessivage des matériaux de construction, des pièces et des consommables automobiles ». *Techniques Sciences Méthodes* 7/8 (7-8): 71-90. <https://doi.org/10.1051/tsm/201778071>.
- Langdon, K. A., M. St. J. Warne, R. J. Smernik, A. Shareef, et R. S. Kookana. 2011. « Degradation of 4-Nonylphenol, 4-t-Octylphenol, Bisphenol A and Triclosan Following Biosolids Addition to Soil under Laboratory Conditions ». *Chemosphere* 84 (11): 1556-62. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.05.053>.
- Lange, K., M. Viklander, et G-T. Blecken. 2022. « Investigation of Intra - Event Variations of Total, Dissolved and Truly Dissolved Metal Concentrations in Highway Runoff and a Gross Pollutant Trap – Bioretention Stormwater Treatment Train ». *Water Research* 216: 118284. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118284>.
- Lassabatere, L., R. Angulo-Jaramillo, D. Goutaland, L. Letellier, J.P. Gaudet, T. Winiarski, et C. Delolme. 2010. « Effect of the Settlement of Sediments on Water Infiltration in Two Urban Infiltration Basins ». *Geoderma* 156 (3-4): 316-25. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2010.02.031>.
- Le Goff, F., et V. Bonnomet. 2004. « Devenir et comportement des métaux dans l'eau : biodisponibilité et modèles BLM ». Rapport technique. INERIS. https://www.ineris.fr/sites/ineris.fr/files/contribution/Documents/03_0693_Rapp_Technique_biodisp_ecot.pdf.
- Lê, S., J. Josse, et F. Husson. 2008. « FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis ». *Journal of Statistical Software* 25: 1-18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>.
- Lee, B-H., et M. Scholz. 2007. « What Is the Role of Phragmites Australis in Experimental Constructed Wetland Filters Treating Urban Runoff? ». *Ecological Engineering* 29 (1): 87-95. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2006.08.001>.
- Lee, C-Y., C-C. Lee, F-Y. Lee, S-K. Tseng, et C-J. Liao. 2004. « Performance of Subsurface Flow Constructed Wetland Taking Pretreated Swine Effluent under Heavy Loads ». *Bioresource Technology* 92 (2): 173-79. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.08.012>.
- Lee, S-H., M-S. Kim, J-G. Kim, et S-O. Kim. 2020. « Use of Soil Enzymes as Indicators for Contaminated Soil Monitoring and Sustainable Management ». *Sustainability* 12 (19): 8209. <https://doi.org/10.3390/su12198209>.
- Lees, K., M. Fitzsimons, J. Snape, A. Tappin, et S. Comber. 2018. « Soil Sterilisation Methods for Use in OECD 106: How Effective Are They? ». *Chemosphere* 209: 61-67. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.073>.
- LeFevre, G. H., R. M. Hozalski, et P. J. Novak. 2012. « The role of biodegradation in limiting the accumulation of petroleum hydrocarbons in raingarden soils ». *Water Research, Special Issue on Stormwater in urban areas*, 46 (20): 6753-62. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.12.040>.
- LeFevre, G. H., P. J. Novak, et R. Hozalski. 2011. « Fate of Naphthalene in Laboratory-Scale Bioretention Cells: Implications for Sustainable Stormwater Management ». *Environmental Science & Technology* 46 (2): 995-1002. <https://doi.org/10.1021/es202266z>.
- LeFevre, G. H., K. H. Paus, P. Natarajan, et J. Gulliver. 2014. « Review of Dissolved Pollutants in Urban Storm Water and Their Removal and Fate in Bioretention Cells ». *Journal of Environmental Engineering* 141 (1): 04014050. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000876](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000876).
- LeFevre, G. H., K. H. Paus, P. Natarajan, J. S. Gulliver, P. J. Novak, et R. M. Hozalski. 2015. « Review of Dissolved Pollutants in Urban Storm Water and Their Removal and Fate in Bioretention Cells ». *JOURNAL OF ENVIRONMENTAL ENGINEERING* 141 (1). [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000876](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000876).
- Légifrance. 1998. Arrêté du 08/01/98 fixant les prescriptions techniques applicables aux épandages de boues sur les sols agricoles pris en application du décret n° 97-1133 du 08/12/97 relatif à l'épandage des boues issues du traitement des eaux usées. <https://aida.ineris.fr/reglementation/arrete-080198-fixant-prescriptions-techniques-applicables-epandages-boues-sols>.
- . 2021. « Article L511-1 - Code de l'environnement ». 2021. https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000043978078.
- . 2022. « Sites et sols pollués ». Ministères Écologie Énergie Territoires. 2022. <https://www.ecologie.gouv.fr/sites-et-sols-pollues>.
- Lenhard, G. 1956. « The dehydrogenase activity in soil as a measure of the activity of soil microorganisms. » *Z. Pflanzenernaehr. Dueng. Bodenkd*, 73(1-11), 10-1002. 73.
- Lenormand, E. 2022. « Etude des impacts du vieillissement des techniques alternatives sur leurs fonctionnalités et leurs performances : caractérisation de la biodiversité végétale des milieux et devenir des boues accumulées dans le contexte des rejets urbains par temps de pluie ». Phdthesis, Université de Strasbourg. <https://hal.science/tel-04131219/>.
- Lenormand, É., I. Combroux, M. Walaszek, P. Bois, et A. Wanko. 2022a. « Étude du vieillissement de mares de sédimentation des eaux pluviales : y a-t-il une migration en profondeur des micropolluants? : Urban stormwater pond ageing assessment: is the impervious clay layer a barrier to micropollutants? ». *Techniques Sciences Méthodes*, n° 4: 39-61. <https://doi.org/10.36904/tsm/202204039>.
- Lenormand, E., C. Kustner, I. Combroux, P. Bois, et A. Wanko. 2022b. « Diagnosing Trace Metals Contamination in Ageing Stormwater Constructed Wetlands by Portable X-Ray Fluorescence Analyzer (pXRF) ». *Science of The Total Environment* 844: 157097. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157097>.
- Leroy, M-C., M. Legras, S. Marcotte, V. Moncond'huy, N. Machour, F. Le Derf, et F. Portet-Koltalo. 2015. « Assessment of PAH Dissipation Processes in Large-Scale Outdoor Mesocosms Simulating Vegetated Road-Side Swales ». *The Science of the Total Environment* 520: 146-53. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.020>.
- Leroy, M-C., F. Portet-Koltalo, M. Legras, F. Lederf, V. Moncond'huy, I. Polaert, et S. Marcotte. 2016. « Performance of Vegetated Swales for Improving Road Runoff Quality in a Moderate Traffic Urban Area ». *Science of The Total Environment* 566-567: 113-21. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.027>.

- Li, G., L. Zu, P-K. Wong, X. Hui, Y. Lu, J. Xiong, et T. An. 2012. « Biodegradation and Detoxification of Bisphenol A with One Newly-Isolated Strain Bacillus Sp. GZB: Kinetics, Mechanism and Estrogenic Transition ». *Bioresource Technology* 114: 224-30. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.067>.
- Li, H., et A. P. Davis. 2008. « Heavy Metal Capture and Accumulation in Bioretention Media ». *Environmental Science & Technology* 42 (14): 5247-53. <https://doi.org/10.1021/es702681j>.
- Li, H., S. Zhang, X-L. Yang, Y-L. Yang, H. Xu, X-N. Li, et H-L. Song. 2019. « Enhanced Degradation of Bisphenol A and Ibuprofen by an Up-Flow Microbial Fuel Cell-Coupled Constructed Wetland and Analysis of Bacterial Community Structure ». *Chemosphere* 217: 599-608. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.022>.
- Li, J., L. Jiang, X. Liu, et J. Lv. 2013. « Adsorption and Aerobic Biodegradation of Four Selected Endocrine Disrupting Chemicals in Soil-Water System ». *International Biodeterioration & Biodegradation* 76: 3-7. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.06.004>.
- Li, L., M. Xu, M. Eyakub Ali, W. Zhang, Y. Duan, et D. Li. 2018. « Factors Affecting Soil Microbial Biomass and Functional Diversity with the Application of Organic Amendments in Three Contrasting Cropland Soils during a Field Experiment ». Édité par J. Mao. *PLOS ONE* 13 (9): e0203812. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203812>.
- Li, X., H. Wang, X. Li, X. Li, et H. Zhang. 2020. « Distribution Characteristics of Fungal Communities with Depth in Paddy Fields of Three Soil Types in China ». *Journal of Microbiology* 58 (4): 279-87. <https://doi.org/10.1007/s12275-020-9409-8>.
- Li, Y-j., H. Fu, J-Y. Zhang, Z-X. Zhang, et J-K. Li. 2021. « Study of Pollutant Accumulation Characteristics and Microbial Community Impact at Three Bioretention Facilities ». *Environmental Science and Pollution Research* 28 (32): 44389-407. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13801-0>.
- Li, Y-W., Q-Y. Cai, C-H. Mo, Q-Y. Zeng, H. Lü, Q-S. Li, et G-S. Xu. 2014. « Plant Uptake and Enhanced Dissipation of Di(2-Ethylhexyl) Phthalate (DEHP) in Spiked Soils by Different Plant Species ». *International Journal of Phytoremediation* 16 (6): 609-20. <https://doi.org/10.1080/15226514.2013.803021>.
- Liang, D-W., T. Zhang, H. H. P. Fang, et J. He. 2008. « Phthalates Biodegradation in the Environment ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 80 (2): 183. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1548-5>.
- Liénard, A., C. Boutin, et R. Bois. 1993. « Coupling of Reed Bed Filters and Ponds: An Example in France ». *Water Science and Technology* 28 (10): 159-67. <https://doi.org/10.2166/wst.1993.0225>.
- Life Adsorb. 2023. « Site officiel du Projet Life Adsorb ». LifeAdsorb. 2023. <https://life-adsorb.eu/fr/caracteristiques>.
- Lim, M. C. H., G. A. Ayoko, L. Morawska, Z. D. Ristovski, E. R. Jayaratne, et S. Kokot. 2006. « A Comparative Study of the Elemental Composition of the Exhaust Emissions of Cars Powered by Liquefied Petroleum Gas and Unleaded Petrol ». *Atmospheric Environment* 40 (17): 3111-22. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2006.01.007>.
- Lindfors, S., H. Österlund, L. Lundy, et M. Viklander. 2021. « Evaluation of Measured Dissolved and Bio-Met Predicted Bioavailable Cu, Ni and Zn Concentrations in Runoff from Three Urban Catchments ». *Journal of Environmental Management* 287: 112263. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112263>.
- Liu, J., J. Shan, B. Jiang, L. Wang, B. Yu, J. Chen, H. Guo, et R. Ji. 2014. « Degradation and Bound-Residue Formation of Nonylphenol in Red Soil and the Effects of Ammonium ». *Environmental Pollution* 186: 83-89. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.11.017>.
- Liu, S-M., et W-C. Chi. 2003. « CO₂-H₂-Dependent Anaerobic Biotransformation of Phthalic Acid Isomers in Sediment Slurries ». *Chemosphere* 52 (6): 951-58. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00326-6](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00326-6).
- Liu, Y., F. Wang, S. Xia, et J. Zhao. 2008. « Study of 4-t-Octylphenol Degradation and Microbial Community in Granular Sludge ». *Journal of Environmental Sciences* 20 (2): 167-71. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)60026-1](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)60026-1).
- Lozupone, C., et R. Knight. 2005. « UniFrac: a New Phylogenetic Method for Comparing Microbial Communities ». *Applied and Environmental Microbiology* 71 (12): 8228-35. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8228-8235.2005>.
- Lucas, R., E. R. Earl, A. O. Babatunde, et B. N. Bockelmann-Evans. 2015. « Constructed Wetlands for Stormwater Management in the UK: A Concise Review ». *Civil Engineering and Environmental Systems* 32 (3): 251-68. <https://doi.org/10.1080/10286608.2014.958472>.
- Lundgren, L. 2021. « Metal Removal Efficiency of Five Filter Media Intended for Use in Road Stormwater Treatment Facilities ». <https://www.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2%3A1539703&dsid=5686>.
- Lynch, M. R. 1995. « Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides ». Society of Environmental Toxicology and Chemistry-Europe (SETAC-Europe).
- Ma, W., Y. Yan, M. Ma, Y. Zhang, C. Nie, et X. Lun. 2016. « Effect of biochar on migration and biodegradation of 4-n-nonylphenol (NP) during river-based groundwater recharge with reclaimed water ». *Desalination and Water Treatment* 57 (60): 29316-27. <https://doi.org/10.1080/19443994.2016.1167631>.
- Mackay, D., W. Y. Shiu, et S. C. Lee. 2006. *Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals - Volume 1: Introduction and Hydrocarbons*. CRC press - Taylor and Francis. <https://www.routledge.com/Handbook-of-Physical-Chemical-Properties-and-Environmental-Fate-for-Organic/Mackay-Shiu-Ma-Lee/p/book/9781566706872>.
- Madsen, P. L., J. B. Thyme, K. Henriksen, P. Møldrup, et P. Roslev. 1999. « Kinetics of Di-(2-Ethylhexyl)Phthalate Mineralization in Sludge-Amended Soil ». *Environmental Science & Technology* 33 (15): 2601-6. <https://doi.org/10.1021/es981015o>.
- Maigne, J. 2006. « La Gestion Durable des Techniques Alternatives en Assainissement pluvial ». <http://www2.agroparistech.fr/IMG/pdf/maigne.pdf>.
- Mak, C., M. Scholz, et P. James. 2017. « Sustainable Drainage System Site Assessment Method Using Urban Ecosystem Services ». *Urban Ecosystems* 20 (2): 293-307. <https://doi.org/10.1007/s11252-016-0593-6>.
- Malaviya, P., et A. Singh. 2012. « Constructed Wetlands for Management of Urban Stormwater Runoff ». *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 42 (20): 2153-2214. <https://doi.org/10.1080/10643389.2011.574107>.

- Maniquiz-Redillas, M., et L-H. Kim. 2014. « Fractionation of Heavy Metals in Runoff and Discharge of a Stormwater Management System and Its Implications for Treatment ». *Journal of Environmental Sciences* 26 (6): 1214-22. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(13\)60591-4](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(13)60591-4).
- Mao, Z., X. F. Zheng, Y. Q. Zhang, X. X. Tao, Y. Li, et W. Wang. 2012. « Occurrence and Biodegradation of Nonylphenol in the Environment ». *International Journal of Molecular Sciences* 13 (1): 491-505. <https://doi.org/10.3390/ijms13010491>.
- Markiewicz, A., K. Björklund, E. Eriksson, Y. Kalmykova, A-M. Strömvall, et A. Siopi. 2017. « Emissions of Organic Pollutants from Traffic and Roads: Priority Pollutants Selection and Substance Flow Analysis ». *Science of The Total Environment* 580: 1162-74. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.074>.
- Maroyi, A., et L. P. A. Oyen. 2011. « Phragmites australis (Cav.) Trin. ex Steud. » 2011. [https://www.prota4u.org/database/protav8.asp?fr=1&q=pe&p=Phragmites+australis+\(Cav.\)+Trin.+ex+Steud](https://www.prota4u.org/database/protav8.asp?fr=1&q=pe&p=Phragmites+australis+(Cav.)+Trin.+ex+Steud).
- Marsalek, J. 2003. « Road Salts in Urban Stormwater: An Emerging Issue in Stormwater Management in Cold Climates ». *Water Science and Technology* 48 (9): 61-70. <https://doi.org/10.2166/wst.2003.0493>.
- Marschner, P., P. F. Grierson, et Z. Rengel. 2005. « Microbial Community Composition and Functioning in the Rhizosphere of Three Banksia Species in Native Woodland in Western Australia ». *Applied Soil Ecology* 28 (3): 191-201. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2004.09.001>.
- Marschner, P., S. Marhan, et E. Kandeler. 2012. « Microscale Distribution and Function of Soil Microorganisms in the Interface between Rhizosphere and Detritosphere ». *Soil Biology and Biochemistry* 49: 174-83. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.01.033>.
- Martin, C. D., et K. D. Johnson. 1995. « The Use of Extended Aeration and In-Series Surface-Flow Wetlands for Landfill Leachate Treatment ». [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(95\)00612-5](https://doi.org/10.1016/0273-1223(95)00612-5).
- Masi, F., A. Rizzo, et M. Regelsberger. 2018. « The Role of Constructed Wetlands in a New Circular Economy, Resource Oriented, and Ecosystem Services Paradigm ». *Journal of Environmental Management* 216: 275-84. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.11.086>.
- Mason, Y., A. A. Ammann, A. Ulrich, et L. Sigg. 1999. « Behavior of Heavy Metals, Nutrients, and Major Components during Roof Runoff Infiltration ». *Environmental Science & Technology* 33 (10): 1588-97. <https://doi.org/10.1021/es980922q>.
- Matsumura, Y., C. Hosokawa, M. Sasaki-Mori, A. Akahira, K. Fukunaga, T. Ikeuchi, K-I. Oshiman, et T. Tsuchido. 2009. « Isolation and Characterization of Novel Bisphenol - A-Degrading Bacteria from Soils ». *Biocontrol Science* 14 (4): 161-69. <https://doi.org/10.4265/bio.14.161>.
- Mattana, S., S. Chelinho, J. P. Sousa, J. M. Alcañiz, et X. Domene. 2019. « Nonylphenol Causes Shifts in Microbial Communities and Nitrogen Mineralization in Soil Microcosms ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 181: 395-403. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.06.032>.
- McCrary, M. H. 1915. « The Numerical Interpretation of Fermentation-Tube Results ». *Journal of Infectious Diseases* 17 (1): 183-212. <https://doi.org/10.1093/infdis/17.1.183>.
- McDonald, D., M. N. Price, J. Goodrich, E. P. Nawrocki, T. Z. DeSantis, A. Probst, G. L. Andersen, R. Knight, et P. Hugenholtz. 2012. « An Improved Greengenes Taxonomy with Explicit Ranks for Ecological and Evolutionary Analyses of Bacteria and Archaea ». *The ISME Journal* 6 (3): 610-18. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.139>.
- Meagher, R. B. 2000. « Phytoremediation of Toxic Elemental and Organic Pollutants ». *Current Opinion in Plant Biology* 3 (2): 153-62. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(99\)00054-0](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(99)00054-0).
- MEEDDM, Ministère de l'écologie de l'énergie du développement durable et de la mer en charge des technologies vertes et des négociations sur le climat. 2010. *Arrêté du 25 janvier 2010 relatif aux méthodes et critères d'évaluation de l'état écologique, de l'état chimique et du potentiel écologique des eaux de surface pris en application des articles R. 212-10, R. 212-11 et R. 212-18 du code de l'environnement*. <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000021865356>.
- Meijer, M. 2009. « Soil Remediation Circular 2009 ». Pays-Bas. <https://support.esdat.net/Environmental%20Standards/dutch/engelse%20versie%20circulaire%20bodemsanering%202009.pdf>.
- Mikha, M. M., C. W. Rice, et G. A. Milliken. 2005. « Carbon and Nitrogen Mineralization as Affected by Drying and Wetting Cycles ». *Soil Biology and Biochemistry* 37 (2): 339-47. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.08.003>.
- Mikkelsen, P. S., M. Häfliger, M. Ochs, P. Jacobsen, J. C. Tjell, et M. Boller. 1997. « Pollution of Soil and Groundwater from Infiltration of Highly Contaminated Stormwater – A Case Study ». *Water Science and Technology* 36 (8): 325-30. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00578-7](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00578-7).
- Miller, J., H. Kim, T. Kjeldsen, J. Packman, S. Grebby, et R. Dearden. 2014. « Assessing the impact of urbanization on storm runoff in a peri-urban catchment using historical change in impervious cover ». *Journal of Hydrology* 515: 59-70. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2014.04.011>.
- Ministère de l'Environnement, de l'Énergie et de la Mer (MEER). 2020. « Plan micropolluants 2016-2021 pour préserver la qualité des eaux et la biodiversité Mise à jour de 2020. » Rapp. tech. https://www.ecologie.gouv.fr/sites/default/files/Plan_micropolluants_def_light.pdf.
- Minkina, T., A. Fedorenko, D. Nevidomskaya, G. Fedorenko, T. Pol'shina, S. Sushkova, V. Chaplygin, et al. 2022. « Uptake of Potentially Toxic Elements and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from the Hydromorphic Soil and Their Cellular Effects on the Phragmites Australis ». *Environmental Pollution* 309: 119727. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119727>.
- Mitas, L., et H. Mitasova. 1999. « Spatial interpolation. » *Geographical information systems: principles, techniques, management and applications* 1 (2). http://fatra.cnr.ncsu.edu/~hmitaso/qmslab/papers/mitas_mitasova_1999_2005.pdf.

- Mitchell, J. I., et A. Zuccaro. 2006. « Sequences, the Environment and Fungi ». *Mycologist* 20 (2): 62-74. <https://doi.org/10.1016/j.mycol.2005.11.004>.
- Mitra, R. S. 1984. « Protein Synthesis in Escherichia Coli during Recovery from Exposure to Low Levels of Cd²⁺ ». *Applied and Environmental Microbiology* 47 (5): 1012-16. <https://doi.org/10.1128/aem.47.5.1012-1016.1984>.
- Mkhinini, M., I. Boughattas, V. Alphonse, A. Livet, S. Giusti-Miller, M. Banni, et N. Bousserhine. 2020. « Heavy Metal Accumulation and Changes in Soil Enzymes Activities and Bacterial Functional Diversity under Long-Term Treated Wastewater Irrigation in East Central Region of Tunisia (Monastir Governorate) ». *Agricultural Water Management* 235: 106150. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106150>.
- Mohanty, S. K., R. Valenca, A. W. Berger, I. K. M. Yu, X. Xiong, T. M. Saunders, et D. C.W. Tsang. 2018. « Plenty of Room for Carbon on the Ground: Potential Applications of Biochar for Stormwater Treatment ». *Science of The Total Environment* 625: 1644-58. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.037>.
- Molle, P. 2003. « Filtres plantés de roseaux : limites hydrauliques et rétention du phosphore ». Phdthesis, Doctorat discipline Energétique génie des procédés, Université Montpellier II. <https://hal.inrae.fr/tel-02583262>.
- . 2014. « French Vertical Flow Constructed Wetlands: A Need of a Better Understanding of the Role of the Deposit Layer ». *Water Science and Technology* 69 (1): 106-12. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.561>.
- Molle, P., J. Fournel, D. Meyer, S. Troesch, F. Clement, E. Brelot, L. Bacot, et al. 2013. *Système extensif pour la gestion et le traitement des eaux urbaines de temps de pluie*. <https://hal.inrae.fr/hal-02599141>.
- Molle, P., G. L. Kouyi, J-Y. Toussaint, S. Troesch, D. Esser, et S. Vareilles. 2010. « Traitement des eaux urbaines de temps de pluie par filtres plantés de roseaux à écoulement vertical : approche globale du projet de recherche Segteup ». In , 8. <https://hal.science/hal-03296723/>.
- Molle, P., A. Liénard, C. Boutin, G. Merlin, et A. Iwema. 2004. « Traitement des eaux usées domestiques par marais artificiels : état de l'art et performances des filtres plantés de roseaux en France », 10.
- Molle, P., A. Liénard, A. Grasmick, et A. Iwema. 2006. « Effect of Reeds and Feeding Operations on Hydraulic Behaviour of Vertical Flow Constructed Wetlands under Hydraulic Overloads ». *Water Research* 40 (3): 606-12. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.11.026>.
- Montenegro, I. P. F. M., A. P. Mucha, M. P. Tomasino, C. R. Gomes, et C. M. R. Almeida. 2021. « Alkylphenols and Chlorophenols Remediation in Vertical Flow Constructed Wetlands: Removal Efficiency and Microbial Community Response ». *Water* 13 (5): 715. <https://doi.org/10.3390/w13050715>.
- Montgomery-Brown, J., Y. Li, W-H. Ding, G. M. Mong, J. A. Campbell, et M. Reinhard. 2008. « NP 1 EC Degradation Pathways Under Oxidic and Microoxic Conditions ». *Environmental Science & Technology* 42 (17): 6409-14. <https://doi.org/10.1021/es702561t>.
- Moon, D-S., et H-G. Song. 2012. « Degradation of Alkylphenols by White Rot Fungus *Irpex Lacteus* and Its Manganese Peroxidase ». *Applied Biochemistry and Biotechnology* 168 (3): 542-49. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9795-4>.
- Morvannou, A., N. Forquet, M. Vanclooster, et P. Molle. 2013. « Characterizing Hydraulic Properties of Filter Material of a Vertical Flow Constructed Wetland ». *Ecological Engineering* 60: 325-35. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.06.042>.
- Moura, R. T. A., M. S. Garrido, C. S. Sousa, R. S. C. Menezes, E. V. S. B. Sampaio, R. T. A. Moura, M. S. Garrido, C. S. Sousa, R. S. C. Menezes, et E. V. S. B. Sampaio. 2018. « Comparison of methods to quantify soil microbial biomass carbon ». *Acta Scientiarum. Agronomy* 40. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v40i1.39451>.
- Mtibaà, R., D. R. Olicón-Hernández, C. Pozo, M. Nasri, T. Mechichi, J. González, et E. Aranda. 2018. « Degradation of Bisphenol A and Acute Toxicity Reduction by Different Thermo-Tolerant Ascomycete Strains Isolated from Arid Soils ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 156: 87-96. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.02.077>.
- Mungasavalli, D. P., et T. Viraraghavan. 2006. « Constructed Wetlands for Stormwater Management: A Review ». *Fresenius Environmental Bulletin* 15 (11): 1363-72.
- Naether, A., B. U. Foessel, V. Naegele, P. K. Wüst, J. Weinert, M. Bonkowski, F. Alt, et al. 2012. « Environmental Factors Affect Acidobacterial Communities below the Subgroup Level in Grassland and Forest Soils ». *Applied and Environmental Microbiology* 78 (20): 7398-7406. <https://doi.org/10.1128/AEM.01325-12>.
- Nakajima, N., Y. Oshima, J. S. Edmonds, et M. Morita. 2004. « Glycosylation of Bisphenol A by Tobacco BY-2 Cells ». *Phytochemistry* 65 (10): 1383-87. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.02.027>.
- Nannipieri, P., R. L. Johnson, et E. A. Paul. 1978. « Criteria for Measurement of Microbial Growth and Activity in Soil ». *Soil Biology and Biochemistry* 10 (3): 223-29. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(78\)90100-1](https://doi.org/10.1016/0038-0717(78)90100-1).
- Napier, F., C. Jefferies, K. V. Heal, P. Fogg, B. J. D. Arcy, et R. Clarke. 2009. « Evidence of Traffic-Related Pollutant Control in Soil-Based Sustainable Urban Drainage Systems (SUDS) ». *Water Science and Technology* 60 (1): 221-30. <https://doi.org/10.2166/wst.2009.326>.
- Nawrot, N., E. Wojciechowska, K. Matej-Lukowicz, J. Walkusz-Miotk, et K. Pazdro. 2021a. « Heavy Metal Accumulation and Distribution in Phragmites Australis Seedlings Tissues Originating from Natural and Urban Catchment ». *Environmental Science and Pollution Research* 28 (12): 14299-309. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07343-9>.
- Nawrot, N., E. Wojciechowska, K. Pazdro, J. Szmagłiński, et J. Pempkowiak. 2021b. « Uptake, Accumulation, and Translocation of Zn, Cu, Pb, Cd, Ni, and Cr by P. Australis Seedlings in an Urban Dredged Sediment Mesocosm: Impact of Seedling Origin and Initial Trace Metal Content ». *Science of The Total Environment*, b, 768: 144983. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.144983>.
- Neff, J. M. 1980. « Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment ». *Biol. Conserv.; (United Kingdom)* 18:1: 84. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(78\)90100-1](https://doi.org/10.1016/0038-0717(78)90100-1).
- Neto, M., A. Ohannessian, C. Delolme, et J-P. Bedell. 2007. « Towards an Optimized Protocol for Measuring Global Dehydrogenase Activity in Storm-Water Sediments (10 Pp) ». *Journal of Soils and Sediments* 7 (2): 101-10. <https://doi.org/10.1065/jss2007.02.206>.

- Newman, M. C., et C. H. Jagoe. 1994. « Ligands and the Bioavailability of Metals in Aquatic Environments ». In *Bioavailability: Physical, Chemical, and Biological Interactions*, 39. CRC Press.
- Nicomrat, Duongruitai, W. A. Dick, M. Dopson, et O. H. Tuovinen. 2008. « Bacterial Phylogenetic Diversity in a Constructed Wetland System Treating Acid Coal Mine Drainage ». *Soil Biology and Biochemistry* 40 (2): 312-21. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.08.009>.
- Nie, X., et L. Wang. 2022. « Plant Species Compositions Alleviate Toxicological Effects of Bisphenol A by Enhancing Growth, Antioxidant Defense System, and Detoxification ». *Environmental Science and Pollution Research* 29 (43): 65755-70. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20402-y>.
- Nogaro, G., F. Mermillod-Blondin, B. Montuelle, J-C. Boisson, J-P. Bedell, A. Ohannessian, B. Volat, et J. Gibert. 2007. « Influence of a stormwater sediment deposit on microbial and biogeochemical processes in infiltration porous media ». *Science of The Total Environment* 377 (2): 334-48. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.01.093>.
- Nomura, Y., S. Harashima, et Y. Oshima. 1989. « A Simple Method for Detection of Enzyme Activities Involved in the Initial Step of Phthalate Degradation in Microorganisms ». *Journal of Fermentation and Bioengineering* 67 (4): 291-96. [https://doi.org/10.1016/0922-338X\(89\)90234-1](https://doi.org/10.1016/0922-338X(89)90234-1).
- NORMAN Ecotoxicology Database. 2023. « NORMAN Ecotoxicology Database ». 2023. <https://www.norman-network.com/nds/ecotox/lowestPnecIndex.php>.
- Oberai, M., et V. Khanna. 2018. « Rhizoremediation – Plant Microbe Interactions in the Removal of Pollutants ». *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 7 (1): 2280-87. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.701.276>.
- OECD. 2002. *Lignes Directrices de l'OCDE Pour Les Essais de Produits Chimiques. Transformation Aérobie et Anaérobie Dans Le Sol*. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-301-ready-biodegradability_9789264070349-en.
- Oh, S., et D. Choi. 2019. « Microbial Community Enhances Biodegradation of Bisphenol A Through Selection of Sphingomonadaceae ». *Microbial Ecology* 77 (3): 631-39. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1263-4>.
- Olisah, C., G. Rubidge, L. R. D. Human, et J. B. Adams. 2021. « A Translocation Analysis of Organophosphate Pesticides between Surface Water, Sediments and Tissues of Common Reed Phragmites Australis ». *Chemosphere* 284: 131380. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131380>.
- Pagotto, C. 1999. « Etude sur l'émission et le transfert dans les eaux et les sols des éléments traces métalliques et des hydrocarbures en domaine routier ». These de doctorat, Poitiers. <https://www.theses.fr/1999POIT2321>.
- Pagotto, C., N. Rémy, M. Legret, et P. Le Cloirec. 2001. « Heavy Metal Pollution of Road Dust and Roadside Soil near a Major Rural Highway ». *Environmental Technology* 22 (3): 307-19. <https://doi.org/10.1080/09593332208618280>.
- Pálfy, T. G., M. Gerodolle, R. Gourdon, D. Meyer, S. Troesch, et P. Molle. 2017. « Performance Assessment of a Vertical Flow Constructed Wetland Treating Unsettled Sewer Overflow ». *Water Science and Technology* 75 (11): 2586-97. <https://doi.org/10.2166/wst.2017.126>.
- Papaevangelou, V. A., G. D. Gikas, V. A. Tshirintzis, M. Antonopoulou, et I. K. Konstantinou. 2016. « Removal of Endocrine Disrupting Chemicals in HSF and VF Pilot-Scale Constructed Wetlands ». *Chemical Engineering Journal* 294: 146-56. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.02.103>.
- Parlement Wallon. 2008. *Décret relatif à la gestion des sols*. <https://wallex.wallonie.be/contents/acts/11/11938/1.html?doc=13358>.
- Patel, A. B., S. Shaikh, K. R. Jain, C. Desai, et D. Madamwar. 2020. « Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Sources, Toxicity, and Remediation Approaches ». *Frontiers in Microbiology* 11: 562813. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.562813>.
- Paul, M. J., et J. L. Meyer. 2001. « STREAMS IN THE URBAN LANDSCAPE ». <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114040>.
- Paus, K. H., J. Morgan, J. S. Gulliver, T. Leiknes, et R. M. Hozalski. 2014. « Assessment of the Hydraulic and Toxic Metal Removal Capacities of Bioretention Cells After 2 to 8 Years of Service ». *Water, Air, & Soil Pollution* 225 (1): 1803. <https://doi.org/10.1007/s11270-013-1803-y>.
- Payet, C., D. Ramier, et P. Branchu. 2023. « Fonctionnement hydraulique du filtre – Synthèse de l'analyse des données ». Comité technique Life Adsorb.
- Paz, A. de la, Nèstor Salinas, et Víctor Matamoros. 2019. « Unravelling the Role of Vegetation in the Attenuation of Contaminants of Emerging Concern from Wetland Systems: Preliminary Results from Column Studies ». *Water Research* 166: 115031. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115031>.
- Peng, Y. H., Y. J. Chen, Y. J. Chang, et Y. H. Shih. 2015. « Biodegradation of bisphenol A with diverse microorganisms from river sediment ». *Journal of Hazardous Materials* 286: 285-90. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.051>.
- Peters, N. E. 2009. « Effects of Urbanization on Stream Water Quality in the City of Atlanta, Georgia, USA ». *Hydrological Processes* 23 (20): 2860-78. <https://doi.org/10.1002/hyp.7373>.
- Petra, A. 2019. « Derivation of Bisphenol A HBM Guidance Values (HBM-GVs): BPA HBM-GVGenPop for the general population & BPA HBM-GVWorker for occupationally exposed adults ».
- Pietikäinen, J., M. Pettersson, et E. Bååth. 2005. « Comparison of Temperature Effects on Soil Respiration and Bacterial and Fungal Growth Rates ». *FEMS Microbiology Ecology* 52 (1): 49-58. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.10.002>.
- Pinton, R., Z. Varanini, et P. Nannipieri. 2007. *The Rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface, Second Edition*. CRC Press.
- Poirel, J., C. Joulian, C. Leyval, et P. Billard. 2013. « Arsenite-Induced Changes in Abundance and Expression of Arsenite Transporter and Arsenite Oxidase Genes of a Soil Microbial Community ». *Research in Microbiology* 164 (5): 457-65. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2013.01.012>.

- Porter, J., R. Pickup, et C. Edwards. 1997. « Evaluation of Flow Cytometric Methods for the Detection and Viability Assessment of Bacteria from Soil ». *Soil Biology and Biochemistry* 29 (1): 91-100. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(96\)00254-4](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(96)00254-4).
- Preusser, S., C. Poll, S. Marhan, G. Angst, C. W. Mueller, J. Bachmann, et E. Kandeler. 2019. « Fungi and Bacteria Respond Differently to Changing Environmental Conditions within a Soil Profile ». *Soil Biology and Biochemistry* 137: 107543. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.107543>.
- Priac, A., N. Morin-Crini, C. Druart, S. Gavoille, C. Bradu, C. Lagarrigue, G. Torri, P. Winterton, et G. Crini. 2017. « Alkylphenol and Alkylphenol Polyethoxylates in Water and Wastewater: A Review of Options for Their Elimination ». *Arabian Journal of Chemistry* 10: S3749-73. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.05.011>.
- Price, M. N., P. S. Dehal, et A. P. Arkin. 2009. « FastTree: Computing Large Minimum Evolution Trees with Profiles instead of a Distance Matrix ». *Molecular Biology and Evolution* 26 (7): 1641-50. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp077>.
- PubChem Database. 2023. « PubChem ». 2023. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
- QGIS Association. s. d. « QGIS.org, %Y. QGIS Geographic Information System. » <http://www.qgis.org>.
- Qiu, H., J. Liu, M. R. Boorboori, D. Li, S. Chen, X. Ma, P. Cheng, et H. Zhang. 2023. « Effect of Biochar Application Rate on Changes in Soil Labile Organic Carbon Fractions and the Association between Bacterial Community Assembly and Carbon Metabolism with Time ». *Science of The Total Environment* 855: 158876. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158876>.
- Rahimi, S., et S. Mortazavi. 2019. « Role of Phragmites Australis for Biomonitoring and Phytoremediation of Heavy Metals Pollution in Badavar River, Lorestan Province (Iran) ». *Archives of Hygiene Sciences* 8 (2): 71-79. <https://doi.org/10.29252/ArchHygSci.8.2.71>.
- Ranchoux, C. 2021. « Mise en place d'un test d'évaluation de la biodégradation des micropolluants organiques dans le filtre planté du Bois de Boulogne à Paris ». Master 2 Chimie Parcours Chimie Analytique /Sorbonne Université. Champs-sur-Marne, France: LEESU, Ecole Nationale des Ponts et Chaussées.
- Ranke, J. 2021. « Graphical User Interface for Fitting Kinetic Models to Chemical Degradation Data ». 2021. <https://pkgdown.rwb.de/gmkin/>.
- Rasche, F., D. Knapp, C. Kaiser, M. Koranda, B. Kitzler, S. Zechmeister-Boltenstern, A. Richter, et A. Sessitsch. 2011. « Seasonality and Resource Availability Control Bacterial and Archeal Communities in Soils of a Temperate Beech Forest ». *The ISME Journal* 5 (3): 389. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.138>.
- Rauret, G., J. F. López-Sánchez, A. Sahuquillo, R. Rubio, C. Davidson, A. Ure, et P. Quevauviller. 1999. « Improvement of the BCR Three Step Sequential Extraction Procedure Prior to the Certification of New Sediment and Soil Reference Materials ». *Journal of Environmental Monitoring* 1 (1): 57-61. <https://doi.org/10.1039/a807854h>.
- Razavi, D., et L. Amir. 2007. « Evaluation of Chemical and Biological Consequences of Soil Sterilization Methods ». *Caspian Journal of Environmental Sciences* 5 (2): 87-91.
- Rengarajan, T., P. Rajendran, N. Nandakumar, B. Lokeshkumar, P. Rajendran, et I. Nishigaki. 2015. « Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons with Special Focus on Cancer ». *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 5 (3): 182-89. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(15\)30003-4](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(15)30003-4).
- Revitt, D. M., L. Lundy, F. Coulon, et M. Fairley. 2014. « The Sources, Impact and Management of Car Park Runoff Pollution: A Review ». *Journal of Environmental Management* 146: 552-67. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.05.041>.
- Revitt, D. M., et G. M. Morrison. 1987. « Metal Speciation Variations within Separate Stormwater Systems ». *Environmental Technology Letters* 8 (1-12): 373-80. <https://doi.org/10.1080/09593338709384496>.
- Riefer, P., Timm Klausmeyer, A. Adams, B. Schmidt, A. Schäffer, et J. Schwarzbauer. 2013. « Incorporation Mechanisms of a Branched Nonylphenol Isomer in Soil-Derived Organo-Clay Complexes during a 180-Day Experiment ». *Environmental Science & Technology* 47 (13): 7155-62. <https://doi.org/10.1021/es304579s>.
- Roslev, P., P. L. Madsen, J. B. Thyme, et K. Henriksen. 1998. « Degradation of Phthalate and Di-(2-Ethylhexyl)Phthalate by Indigenous and Inoculated Microorganisms in Sludge-Amended Soil ». *Applied and Environmental Microbiology* 64 (12): 4711-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.12.4711-4719.1998>.
- Rotaru, C., T. L. Woodard, et K. P. Nevin. 2011. « Bacterial Diversity in Soil Exposed to Highway Runoff and De-Icing Agents ». *Geomicrobiology Journal* 28 (4): 359-70. <https://doi.org/10.1080/01490451.2010.504608>.
- Rozkošný, M., R. Novotný, D. Beránková, M. Křiška, et T. Hudcová. 2014. « Development and Changes in Characteristics of Infiltration and Retention Facilities for Transport Infrastructure and Paved Area Surface Run-off Treatment ». *Transactions on Transport Sciences* 7 (4): 169-78. <https://doi.org/10.2478/trans-2014-0015>.
- Rulianti, A. D., M. Hasegawa, Y. Ikunaga, Y. Sato, et H. Ohta. 2007. « Isolation of Octylphenol Polyethoxylate-Degrading Soil Bacteria: A Long-Term Soil Column Study ». *Microbes and Environments* 22 (4): 391-98. <https://doi.org/10.1264/jsme2.22.391>.
- Ruppelt, J. P., K. Tondera, S. J. Wallace, M. Button, J. Pinnekamp, et K. P. Weber. 2020. « Assessing the Role of Microbial Communities in the Performance of Constructed Wetlands Used to Treat Combined Sewer Overflows ». *Science of The Total Environment* 736: 139519. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139519>.
- Salem, Z. B., X. Laffray, A. Ashoor, H. Ayadi, et L. Aleya. 2014. « Metal Accumulation and Distribution in the Organs of Reeds and Cattails in a Constructed Treatment Wetland (Etueffont, France) ». *Ecological Engineering* 64: 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.12.027>.
- Sánchez, O. 2017. « Constructed Wetlands Revisited: Microbial Diversity in the –Omics Era ». *Microbial Ecology* 73 (3): 722-33. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0881-y>.
- Sansalone, J. J., S. G. Buchberger, et S. R. Al-Abed. 1996. « Fractionation of Heavy Metals in Pavement Runoff ». *Science of The Total Environment* 189-190: 371-78. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(96\)05233-3](https://doi.org/10.1016/0048-9697(96)05233-3).

- Sarma, H., A. Nava, A. Manriquez, D. Dominguez, et W. Y. Lee. 2019. « Biodegradation of bisphenol A by bacterial consortia isolated directly from river sediments ». *Environmental Technology & Innovation* 14: 100314. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.01.008>.
- Sasaki, M., J-I. Maki, K-I. Oshiman, Y. Matsumura, et T. Tsuchido. 2005. « Biodegradation of Bisphenol A by Cells and Cell Lysate from *Sphingomonas* Sp. Strain AO1 ». *Biodegradation* 16 (5): 449-59. <https://doi.org/10.1007/s10532-004-5023-4>.
- Sauvâtre, A., et P. Schröder. 2015. « Uptake of Carbamazepine by Rhizomes and Endophytic Bacteria of *Phragmites Australis* ». *Frontiers in Plant Science* 6 (83). <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00083>.
- Sayed, A. E. D, M. Abd-Elkareem, et N Abou Khalil. 2019. « Immunotoxic effects of 4-nonylphenol on *Clarias gariepinus*: Cytopathological changes in hepatic melanomacrophages ». *Aquatic Toxicology* 207: 83-90. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.12.002>.
- Schierholz, I., D. SchaEfer, et O. Kolle. 2000. « The Weiherbach Data Set: An Experimental Data Set for Pesticide Model Testing on the Field Scale ». *Agricultural Water Management* 44: 43-61. [https://doi.org/10.1016/S0378-3774\(99\)00083-9](https://doi.org/10.1016/S0378-3774(99)00083-9).
- Schmitt, N. 2014. « Caractérisation des systèmes hybrides pour le traitement des eaux pluviales: mitigation des substances prioritaires et émergentes ». Phdthesis, Université de Strasbourg. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01214516>.
- Schmitt, N., A. Wanko, J. Laurent, P. Bois, P. Molle, et R. Mosé. 2015. « Constructed Wetlands Treating Stormwater from Separate Sewer Networks in a Residential Strasbourg Urban Catchment Area: Micropollutant Removal and Fate ». *Journal of Environmental Chemical Engineering* 3 (4, Part A): 2816-24. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2015.10.008>.
- Schnürer, J., et T. Rosswall. 1982. « Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Microbial Activity in Soil and Litter ». *Applied and Environmental Microbiology* 43 (6): 1256-61. <https://doi.org/10.1128/aem.43.6.1256-1261.1982>.
- Scholz, M., et B-H. Lee. 2005. « Constructed Wetlands: A Review ». *International Journal of Environmental Studies* 62 (4): 421-47. <https://doi.org/10.1080/00207230500119783>.
- Segata, N., J. Izard, L. Waldron, D. Gevers, L. Miropolsky, W. S. Garrett, et C. Huttenhower. 2011a. « Metagenomic Biomarker Discovery and Explanation ». *Genome Biology* 12 (6): R60. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-6-r60>.
- . 2011b. « Metagenomic Biomarker Discovery and Explanation ». *Genome Biology* 12 (6): R60. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-6-r60>.
- Seidl, M., J. Le Roux, R. Mazerolles, et Noureddine Bousserhine. 2021. « Assessment of Leaching Risk of Trace Metals, PAHs and PCBs from a Brownfield Located in a Flooding Zone ». *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15491-0>.
- Shackle, V.J., C. Freeman, et B. Reynolds. 2000. « Carbon Supply and the Regulation of Enzyme Activity in Constructed Wetlands ». *Soil Biology and Biochemistry* 32 (13): 1935-40. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00169-3](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00169-3).
- Shannon, C. E. 1948. « A mathematical theory of communication ». *The Bell System Technical Journal* 27 (3): 379-423. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>.
- Shen, J., X-Z. Wang, Z. Zhang, Y-M. Sui, H-L. Wu, J-M. Feng, X-N. Tong, et Z-Y. Zhang. 2017. « Adsorption and degradation of 14C-bisphenol A in a soil trench ». *Science of The Total Environment* 607-608: 676-82. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.108>.
- Sheoran, V., A. S. Sheoran, et P. Poonia. 2016. « Factors Affecting Phytoextraction: A Review ». *Pedosphere* 26 (2): 148-66. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(15\)60032-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)60032-7).
- Shi, G., J. Hu, Y. Cheng, W. Shi, et Y. Chen. 2022. « *Pseudomonas Aeruginosa* Improved the Phytoremediation Efficiency of Ryegrass on Nonylphenol-Cadmium Co-Contaminated Soil ». *Environmental Science and Pollution Research* 30 (10): 28247-58. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-24224-w>.
- Shibata, A., Y. Inoue, et A. Katayama. 2006. « Aerobic and Anaerobic Biodegradation of Phenol Derivatives in Various Paddy Soils ». *Science of the Total Environment* 367 (2-3): 979-87. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.01.031>.
- Shrestha, P., S. E. Hurler, et B. C. Wemple. 2018. « Effects of Different Soil Media, Vegetation, and Hydrologic Treatments on Nutrient and Sediment Removal in Roadside Bioretention Systems ». *Ecological Engineering* 112: 116-31. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.12.004>.
- Shrestha, R. G., M. Nakai, D. Inoue, et M. Ike. 2021. « Potential for Enhanced Degradation and Removal of Various Bisphenols by Interaction between Common Reed (*Phragmites Australis*) and Microorganisms ». *Journal of Water and Environment Technology* 19 (1): 13-23. <https://doi.org/10.2965/jwet.20-117>.
- Shuttleworth, K. L., et E. Cerniglia. 1995. « Environmental Aspects of PAH Biodegradation ». *Applied Biochemistry and Biotechnology* 54 (1): 291-302. <https://doi.org/10.1007/BF02787927>.
- Singh, D., S. K. Singh, V. K. Singh, A. Gupta, M. Amir, et A. Kumar. 2020. « Plant Growth-Promoting Bacteria and Their Role in Environmental Management ». In *Abatement of Environmental Pollutants*, 161-75. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818095-2.00008-4>.
- Sinsabaugh, R. L. 2010. « Phenol Oxidase, Peroxidase and Organic Matter Dynamics of Soil ». *Soil Biology and Biochemistry* 42 (3): 391-404. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.014>.
- Sirivedhin, T., et K. A. Gray. 2006. « Factors Affecting Denitrification Rates in Experimental Wetlands: Field and Laboratory Studies ». *Ecological Engineering* 26 (2): 167-81. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2005.09.001>.
- Sjöström, Å. E., C. D. Collins, S. R. Smith, et G. Shaw. 2008. « Degradation and Plant Uptake of Nonylphenol (NP) and Nonylphenol-12-Ethoxylate (NP12EO) in Four Contrasting Agricultural Soils ». *Environmental Pollution* 156 (3): 1284-89. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.03.005>.
- Skorobogatov, A., J. He, A. Chu, C. Valeo, et B. Van Duin. 2020. « The Impact of Media, Plants and Their Interactions on Bioretention Performance: A Review ». *Science of The Total Environment* 715: 136918. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136918>.

- Skujinš, J., et R. G. Burns. 1976. « Extracellular Enzymes in Soil ». *CRC Critical Reviews in Microbiology* 4 (4): 383-421. <https://doi.org/10.3109/10408417609102304>.
- Soares, A., B. Guieysse, O. Delgado, et B. Mattiasson. 2003. « Aerobic Biodegradation of Nonylphenol by Cold-Adapted Bacteria ». <https://doi.org/10.1023/A:1023466916678>.
- Soares, A., B. Guieysse, B. Jefferson, E. Cartmell, et J. N. Lester. 2008a. « Nonylphenol in the Environment: A Critical Review on Occurrence, Fate, Toxicity and Treatment in Wastewaters ». *Environment International* 34 (7): 1033-49. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.01.004>.
- . 2008b. « Nonylphenol in the Environment: A Critical Review on Occurrence, Fate, Toxicity and Treatment in Wastewaters ». *Environment International* 34 (7): 1033-49. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.01.004>.
- Soares, A., K. Jonasson, E. Terrazas, B. Guieysse, et B. Mattiasson. 2005. « The Ability of White-Rot Fungi to Degrade the Endocrine-Disrupting Compound Nonylphenol ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 66 (6): 719-25. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1747-7>.
- Søberg, L. C., R. Winston, M. Viklander, et G-T. Blecken. 2019. « Dissolved Metal Adsorption Capacities and Fractionation in Filter Materials for Use in Stormwater Bioretention Facilities ». *Water Research X* 4: 100032. <https://doi.org/10.1016/j.wroa.2019.100032>.
- Song, M., C. Luo, L. Jiang, D. Zhang, Y. Wang, et G. Zhang. 2015. « Identification of Benzo[a]Pyrene-Metabolizing Bacteria in Forest Soils by Using DNA-Based Stable-Isotope Probing ». Édité par H. Nojiri. *Applied and Environmental Microbiology* 81 (21): 7368-76. <https://doi.org/10.1128/AEM.01983-15>.
- Spivack, J., T. K. Leib, et J. H. Lobos. 1994. « Novel pathway for bacterial metabolism of bisphenol A. Rearrangements and stilbene cleavage in bisphenol A metabolism ». *Journal of Biological Chemistry* 269 (10): 7323-29. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)37287-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)37287-3).
- Spohn, M., A. Carminati, et Y. Kuzyakov. 2013. « Soil Zymography – A Novel in Situ Method for Mapping Distribution of Enzyme Activity in Soil ». *Soil Biology and Biochemistry* 58: 275-80. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.12.004>.
- Spohn, M., et Y. Kuzyakov. 2013b. « Distribution of Microbial- and Root-Derived Phosphatase Activities in the Rhizosphere Depending on P Availability and C Allocation – Coupling Soil Zymography with ¹⁴C Imaging ». *Soil Biology and Biochemistry*, b, 67: 106-13. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.08.015>.
- Stachel, B., J-U. Holthuis, W. Schulz, W. Seitz, W. H. Weber, K-T. Tegge, et I. Dobner. 2010. « Treatment Techniques and Analysis of Stormwater Run-off from Roads in Hamburg, Germany ». In *Xenobiotics in the Urban Water Cycle: Mass Flows, Environmental Processes, Mitigation and Treatment Strategies*, édité par D. Fatta-Kassinos, K. Bester, et K. Kümmerer, 445-61. Environmental Pollution. Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3509-7_24.
- Staples, C. A., D. R. Peterson, T. F. Parkerton, et W. J. Adams. 1997. « The Environmental Fate of Phthalate Esters: A Literature Review ». *Chemosphere* 35 (4): 667-749. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)00195-1](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00195-1).
- Stein, O. R., et P. B. Hook. 2005. « Temperature, Plants, and Oxygen: How Does Season Affect Constructed Wetland Performance? ». *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 40 (6-7): 1331-42. <https://doi.org/10.1081/ESE-200055840>.
- Stohs, S., et D. Bagchi. 1995. « Oxidative Mechanisms in the Toxicity of Metal Ions ». *Free Radical Biology and Medicine* 18 (2): 321-36. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)00159-H](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)00159-H).
- Stottmeister, U., A. Wießner, P. Kusch, U. Kappelmeyer, M. Kästner, O. Bederski, R. A. Müller, et H. Moormann. 2003. « Effects of Plants and Microorganisms in Constructed Wetlands for Wastewater Treatment ». *Biotechnology Advances* 22 (1-2): 93-117. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2003.08.010>.
- Strömvall, A-M., M. Norin, et T. Pettersson. 2007. *Organic Contaminants in Urban Sediments and Vertical Leaching in Road Ditches*. Édité par G. M. Morrison et S. Rauch. Alliance For Global Sustainability Bookseries. Dordrecht: Springer Netherlands.
- Sturges, H. A. 1926. « The Choice of a Class Interval ». *Journal of the American Statistical Association* 21 (153): 65-66.
- Subrahmanyam, Gangavarapu, J-P. Shen, Y-R. Liu, G. Archana, et L-M. Zhang. 2016. « Effect of Long-Term Industrial Waste Effluent Pollution on Soil Enzyme Activities and Bacterial Community Composition ». *Environmental Monitoring and Assessment* 188 (2): 112. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5099-4>.
- Sun, Tian-Ran, L. Cang, Q-Y. Wang, D-M. Zhou, J-M. Cheng, et H. Xu. 2010. « Roles of Abiotic Losses, Microbes, Plant Roots, and Root Exudates on Phytoremediation of PAHs in a Barren Soil ». *Journal of Hazardous Materials* 176 (1): 919-25. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.11.124>.
- Sundberg, C., J. S. K. Stendahl, K. Tonderski, et P-E. Lindgren. 2007. « Overland Flow Systems for Treatment of Landfill Leachates—Potential Nitrification and Structure of the Ammonia-Oxidising Bacterial Community during a Growing Season ». *Soil Biology and Biochemistry* 39 (1): 127-38. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.06.016>.
- Sushkova, S., T. Minkina, S. Tarigholizadeh, V. Rajput, A. Fedorenko, E. Antonenko, T. Dudnikova, N. Chernikova, B. K. Yadav, et A. Batukaev. 2021. « Soil PAHs Contamination Effect on the Cellular and Subcellular Organelle Changes of *Phragmites Australis* Cav. ». *Environmental Geochemistry and Health* 43 (6): 2407-21. <https://doi.org/10.1007/s10653-020-00735-8>.
- Sutton, S. 2010. « The Most Probable Number Method and Its Uses in Enumeration, Qualification, and Validation ». *Journal of Validation Technology* 16 (3): 35-38.
- Swiontek Brzezinska, M., A. Kalwasińska, E. Lalke-Porczyk, A. Burkowska-But, et U. Jankiewicz. 2016. « Rhizosphere Effect of *Salix viminalis* L. on Soil Enzyme Activity in a Wastewater Treatment Wetland ». *CLEAN – Soil, Air, Water* 44 (5): 563-71. <https://doi.org/10.1002/clen.201400055>.
- SYMASOL. 2016. « Gestion des eaux pluviales - Guide pour la mise en œuvre de techniques alternative ». http://www.symasol.fr/wp-content/uploads/2016/08/Brochure-SYMASOL_isbn_Web.pdf.
- Tabatabai, M. A. 1982. « Soil enzymes ». In *Methods of Soil Analysis, Part 2, 2.*, American Society of Agronomy, Madison, WI, p. 903–947.

- . 1994. « Soil enzymes ». In *Methods of Soil Analysis: Part 2 Microbiological and Biochemical Properties*.
- Tassin, B., et G. Chebbo. 2000. « Qualité des rejets urbains de temps de pluie ». Environmental Protection Agency (EPA).
- Tatoulis, T., C. S. Akrotas, A. G. Tekerlekopoulou, D. V. Vayenas, et A. I. Stefanakis. 2017. « A Novel Horizontal Subsurface Flow Constructed Wetland: Reducing Area Requirements and Clogging Risk ». *Chemosphere* 186: 257-68. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.151>.
- Taylor, J. P., B. Wilson, M. S. Mills, et R. G. Burns. 2002. « Comparison of Microbial Numbers and Enzymatic Activities in Surface Soils and Subsoils Using Various Techniques ». *Soil Biology and Biochemistry* 34 (3): 387-401. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(01\)00199-7](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(01)00199-7).
- Tchounwou, P. B., C. G. Yedjou, A. K. Patlolla, et D. J. Sutton. 2012. « Heavy Metal Toxicity and the Environment ». In *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*, 3:133-64. Experientia Supplementum. Basel: Springer Basel. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6.
- Tedoldi, D. 2017. « Mesure et modélisation de la contamination du sol dans les ouvrages de gestion à la source du ruissellement urbain ». Thèse de doctorat, Université Paris-Est. <https://pastel.archives-ouvertes.fr/tel-01703864>.
- Tedoldi, D., G. Chebbo, D. Pierlot, Y. Kovacs, et M-C. Gromaire. 2016. « Impact of runoff infiltration on contaminant accumulation and transport in the soil/filter media of Sustainable Urban Drainage Systems: A literature review ». *Science of The Total Environment* 569-570: 904-26. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.215>.
- . 2017. « Assessment of Metal and PAH Profiles in SUDS Soil Based on an Improved Experimental Procedure ». *Journal of Environmental Management* 202: 151-66. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.06.063>.
- Tedoldi, D., M-C. Gromaire, et G. Chebbo. 2020. « Infiltrer les eaux pluviales c'est aussi maîtriser les flux polluants. État des connaissances et recommandations techniques pour la diffusion de solutions fondées sur la nature. »
- Tessier, A., P. G. C. Campbell, et M. Bisson. 1979. « Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals » 51 (7): 8. <https://doi.org/10.1021/ac50043a017>.
- Tian, K., Y. Yu, Q. Qiu, X. Sun, F. Meng, Y. Bi, J. Gu, Y. Wang, F. Zhang, et H. Huo. 2022. « Mechanisms of BPA Degradation and Toxicity Resistance in *Rhodococcus Equi* ». *Microorganisms* 11 (1): 67. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010067>.
- Tilman, D. 2001. « Functional Diversity ». *Encyclopedia of Biodiversity* 3 (1): 109-20. <https://doi.org/10.1016/B0-12-226865-2/00132-2>.
- Tiquia, S.M. 2010. « Metabolic Diversity of the Heterotrophic Microorganisms and Potential Link to Pollution of the Rouge River ». *Environmental Pollution* 158 (5): 1435-43. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.12.035>.
- Tissier, C., C. Morvan, et G. Bocquené. 2005. « Les substances prioritaires de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) ».
- Toet, S., R. S. P. Van Logtestijn, R. Kampf, M. Schreijer, et J. T. A. Verhoeven. 2005. « The Effect of Hydraulic Retention Time on the Removal of Pollutants from Sewage Treatment Plant Effluent in a Surface-Flow Wetland System ». *Wetlands* 25 (2): 375-91. <https://doi.org/10.1672/13>.
- Tondera, K., J. P. Ruppelt, J. Pinnekamp, T. Kistemann, et C. Schreiber. 2019. « Reduction of Micropollutants and Bacteria in a Constructed Wetland for Combined Sewer Overflow Treatment after 7 and 10 years of Operation ». *Science of The Total Environment* 651: 917-27. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.174>.
- Tong, T., R. Li, M. Chai, Q. Wang, Y. Yang, et S. Xie. 2021. « Metagenomic Analysis of Microbial Communities Continuously Exposed to Bisphenol A in Mangrove Rhizosphere and Non-Rhizosphere Soils ». *Science of The Total Environment* 792: 148486. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148486>.
- Topp, E., et A. Starratt. 2000. « Rapid Mineralization of the Endocrine-Disrupting Chemical 4-Nonylphenol in Soil ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 19 (2): 313-18. <https://doi.org/10.1002/etc.5620190210>.
- Toyama, T., M. Murashita, K. Kobayashi, S. Kikuchi, K. Sei, Y. Tanaka, M. Ike, et K. Mori. 2011. « Acceleration of Nonylphenol and 4- Tert -Octylphenol Degradation in Sediment by *Phragmites Australis* and Associated Rhizosphere Bacteria ». *Environmental Science & Technology* 45 (15): 6524-30. <https://doi.org/10.1021/es201061a>.
- Toyama, T., Y. Sato, D. Inoue, K. Sei, Y-C. Chang, S. Kikuchi, et M. Ike. 2009. « Biodegradation of Bisphenol A and Bisphenol F in the Rhizosphere Sediment of *Phragmites Australis* ». *Journal of Bioscience and Bioengineering* 108 (2): 147-50. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.03.011>.
- Tran, B. C., M-J. Teil, M. Blanchard, F. Alliot, et M. Chevreuil. 2015. « Fate of Phthalates and BPA in Agricultural and Non-Agricultural Soils of the Paris Area (France) ». *Environmental Science and Pollution Research* 22 (14): 11118-26. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4178-3>.
- Trein, C. M., C. Banc, K. Maciejewski, A. De Moraes Motta, R. Gourdon, P. Molle, M. Gautier, et M. Von Sperling. 2020. « French Vertical Flow Treatment Wetlands in a Subtropical Climate: Characterization of the Organic Deposit Layer and Comparison with Systems in France ». *Science of The Total Environment* 742: 140608. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140608>.
- Tripathi, B. M., H. M. Kim¹, J. Y. Jung, S. Nam, H. T. Ju, M. Kim, et Y. K. Lee. 2019. « Distinct Taxonomic and Functional Profiles of the Microbiome Associated With Different Soil Horizons of a Moist Tussock Tundra in Alaska ». *Frontiers in Microbiology* 10: 1442. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01442>.
- Truu, M., J. Juhanson, et J. Truu. 2009. « Microbial Biomass, Activity and Community Composition in Constructed Wetlands ». *Science of The Total Environment* 407 (13): 3958-71. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.11.036>.
- United Nations Human Settlements Programme. 2022. « World Cities Report 2022: Envisaging the Future of Cities ». www.unhabitat.org.
- Ure, A. M., P. Quevauviller, H. Muntau, et B. Griepink. 1993. « Speciation of Heavy Metals in Soils and Sediments. An Account of the Improvement and Harmonization of Extraction Techniques Undertaken Under the Auspices of the BCR of the Commission of the European Communities ». *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 51 (1-4): 135-51. <https://doi.org/10.1080/03067319308027619>.

- Uribe-Aguado, J., S. L. Jiménez-Ariza, M. N. Torres, N. A. Bernal, M. M. Giraldo-González, et J. P. Rodríguez. 2022. « A SUDS Planning Decision Support Tool to Maximize Ecosystem Services ». *Sustainability* 14 (8): 4560. <https://doi.org/10.3390/su14084560>.
- US EPA. 1976. « Quality Criteria for Water ». <https://www.epa.gov/sites/default/files/2018-10/documents/quality-criteria-water-1976.pdf>.
- . 2014. « Priority Pollutant List ». United States. <https://www.epa.gov/eg/toxic-and-priority-pollutants-under-clean-water-act>.
- USDA Plants Database. 2021. « Phragmites australis (Cav.) Trin. ex Steud. » 2021. <https://plants.usda.gov/home/plantProfile?symbol=PHAU7>.
- Usharani, B. 2019. « Metagenomics Study of the Microbes in Constructed Wetland System Treating Sewage ». *International Letters of Natural Sciences* 74: 26-48. <https://doi.org/10.56431/p-ua15r0>.
- Van Der Meer, J. R. 2006. « Environmental Pollution Promotes Selection of Microbial Degradation Pathways ». *Frontiers in Ecology and the Environment* 4 (1): 35-42. [https://doi.org/10.1890/1540-9295\(2006\)004\[0035:EPPSOM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1540-9295(2006)004[0035:EPPSOM]2.0.CO;2).
- Vančura, V., et A. Hovadik. 1965. « Root exudates of plants: II. Composition of root exudates of some vegetables ». *Plant and Soil* 22: 21-32. <https://doi.org/10.1007/BF01377686>.
- Veillette, C. 2018. « Évaluation du danger écotoxicologique du butylphénol et de l'octylphénol et proposition de solutions adaptées ». Essai, Université de Sherbrooke. <http://hdl.handle.net/11143/13349>.
- Venvik et Boogaard. 2020. « XRF Quick-Scan Mapping for Heavy Metal Pollutants in SuDS: A Methodological Approach ». *Sci 2* (1): 5. <https://doi.org/10.3390/sci2010005>.
- Venvik, S. 2019. « In Situ Mapping of Pollutants in Sustainable Urban Drainage Systems, a New Methodology Approach and Preliminary Results from the Netherlands ». In . CIRIA. London, UK: CIRIA.
- Verduzo Garibay, M., A. Fernández Del Castillo, J. De Anda, C. Senés-Guerrero, et M. S. Gradilla-Hernández. 2022. « Structure and Activity of Microbial Communities in Response to Environmental, Operational, and Design Factors in Constructed Wetlands ». *International Journal of Environmental Science and Technology* 19 (11): 11587-612. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03719-y>.
- Voordeckers, J. W., D. E. Fennell, K. Jones, et M. M. Häggblom. 2002. « Anaerobic Biotransformation of Tetrabromobisphenol A, Tetrachlorobisphenol A, and Bisphenol A in Estuarine Sediments ». *Environmental Science & Technology* 36 (4): 696-701. <https://doi.org/10.1021/es011081h>.
- Vymazal, J. 2002. « The Use of Sub-Surface Constructed Wetlands for Wastewater Treatment in the Czech Republic: 10 Years Experience ». *Ecological Engineering* 18 (5): 633-46. [https://doi.org/10.1016/S0925-8574\(02\)00025-3](https://doi.org/10.1016/S0925-8574(02)00025-3).
- . 2007. « Removal of Nutrients in Various Types of Constructed Wetlands ». *Science of The Total Environment* 380 (1-3): 48-65. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.09.014>.
- . 2011. « Constructed Wetlands for Wastewater Treatment: Five Decades of Experience ». *Environmental Science & Technology* 45 (1): 61-69. <https://doi.org/10.1021/es101403q>.
- . 2013. « Plants in Constructed, Restored and Created Wetlands ». *Ecological Engineering* 61: 501-4. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.10.035>.
- . 2014. « Constructed Wetlands for Treatment of Industrial Wastewaters: A Review ». *Ecological Engineering* 73: 724-51. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.09.034>.
- . 2016. « Concentration Is Not Enough to Evaluate Accumulation of Heavy Metals and Nutrients in Plants ». *Science of The Total Environment* 544: 495-98. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.011>.
- Vymazal, J., M. Greenway, K. Tonderski, H. Brix, et Ü. Mander. 2006. « Constructed Wetlands for Wastewater Treatment ». *Wetlands and Natural Resource Management*, 69-96. https://doi.org/10.1007/978-3-540-33187-2_5.
- Walaszek, M. 2018b. « Dynamique des flux de micropolluants et mécanismes de dépollution des rejets pluviaux urbains stricts à travers une technique alternative: approche multi-échelles par des méthodes expérimentale et numérique ». These de doctorat, Strasbourg. <https://www.theses.fr/2018STRAD002>.
- Walaszek, M., P. Bois, J. Laurent, E. Lenormand, et A. Wanko. 2018. « Micropollutants Removal and Storage Efficiencies in Urban Stormwater Constructed Wetland ». *Science of The Total Environment* 645: 854-64. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.156>.
- Walsh, C. J., T. D. Fletcher, et M. J. Burns. 2012. « Urban Stormwater Runoff: A New Class of Environmental Flow Problem ». Édité par J. A. Gilbert. *PLoS ONE* 7 (9): e45814. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045814>.
- Wang, D., Y. Bai, et J. Qu. 2022. « The Phragmites Root-Inhabiting Microbiome: A Critical Review on Its Composition and Environmental Application ». *Engineering* 9: 42-50. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2021.05.016>.
- Wang, L., et T. Li. 2015. « Effects of Seasonal Temperature Variation on Nitrification, Anammox Process, and Bacteria Involved in a Pilot-Scale Constructed Wetland ». *Environmental Science and Pollution Research* 22 (5): 3774-83. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3633-x>.
- Wang, S., F. Liu, W. Wu, Y. Hu, R. Liao, G. Chen, J. Wang, et J. Li. 2018. « Migration and Health Risks of Nonylphenol and Bisphenol a in Soil-Winter Wheat Systems with Long-Term Reclaimed Water Irrigation ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 158: 28-36. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.082>.
- Wang, S., R. Wang, J. Vyzmal, Y. Hu, W. Li, J. Wang, Y. Lei, et al. 2023. « Shifts of Active Microbial Community Structure and Functions in Constructed Wetlands Responded to Continuous Decreasing Temperature in Winter ». *Chemosphere* 335: 139080. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139080>.
- Wang, X., H. Zhu, B. Yan, B. Shutes, G. Bañuelos, et H. Wen. 2020. « Bioaugmented Constructed Wetlands for Denitrification of Saline Wastewater: A Boost for Both Microorganisms and Plants ». *Environment International* 138: 105628. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105628>.

- Wang, Z., Y. Yang, T. He, et S. Xie. 2015b. « Change of Microbial Community Structure and Functional Gene Abundance in Nonylphenol-Degrading Sediment ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 99 (7): 3259-68. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6222-5>.
- Wang, Z., Y. Yang, W. Sun, et S. Xie. 2014. « Biodegradation of nonylphenol by two alphaproteobacterial strains in liquid culture and sediment microcosm. » *International Biodeterioration & Biodegradation* 92: 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.04.004>.
- Wang, Z., Y. Yang, W. Sun, S. Xie, et Y. Liu. 2014. « Nonylphenol Biodegradation in River Sediment and Associated Shifts in Community Structures of Bacteria and Ammonia-Oxidizing Microorganisms ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 106: 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.04.019>.
- Watanabe, W., Y. Hori, S. Nishimura, A. Takagi, M. Kikuchi, et J. Sawai. 2012. « Bacterial Degradation and Reduction in the Estrogen activity of 4-nonylphenol ». *Biocontrol science* 17(1) (3): 143-47. <https://doi.org/10.4265/bio.17.143>.
- Wdowczyk, A., et A. Szymańska-Pulikowska. 2023. « Effect of Substrates on the Potential of Phragmites Australis to Accumulate and Translocate Selected Contaminants from Landfill Leachate ». *Water Resources and Industry* 29: 100203. <https://doi.org/10.1016/j.wri.2023.100203>.
- Weber, K. P., et R. L. Legge. 2009. « One-Dimensional Metric for Tracking Bacterial Community Divergence Using Sole Carbon Source Utilization Patterns ». *Journal of Microbiological Methods* 79 (1): 55-61. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.07.020>.
- . 2010. « Community-Level Physiological Profiling ». In *Bioremediation*, édité par Stephen P. Cummings, 599:263-81. Methods in Molecular Biology. Totowa, NJ: Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-439-5_16.
- Weber, Kela. 2016. « Microbial Community Assessment in Wetlands for Water Pollution Control: Past, Present, and Future Outlook ». *Water* 8 (11): 503. <https://doi.org/10.3390/w8110503>.
- Weber, Kela P., Matthias Gehder, et Raymond L. Legge. 2008. « Assessment of Changes in the Microbial Community of Constructed Wetland Mesocosms in Response to Acid Mine Drainage Exposure ». *Water Research* 42 (1-2): 180-88. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.06.055>.
- Wei T, S. V. 2021. « R package "corrplot": Visualization of a Correlation Matrix. (Version 0.92) ». <https://github.com/taiyun/corrplot>.
- Wei, H., K. Flanagan, L. Lundy, T. M. Muthanna, et M. Viklander. 2023. « A Study of 101 Organic Substances in Gully Pot Sediments Accumulated over a One-Year Period in Stockholm, Sweden ». *Science of The Total Environment* 894: 165028. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165028>.
- Weijie, G., L. Zhu, C. Shuiping, L. Wei, et W. Zhenbin. 2014. « Enzyme Activities in Pilot-Scale Constructed Wetlands for Treating Urban Runoff in China: Temporal and Spatial Variations ». *Desalination and Water Treatment*, 1-9. <https://doi.org/10.1080/19443994.2014.966327>.
- Wen, Z-D., D-W. Gao, et W-M. Wu. 2014. « Biodegradation and Kinetic Analysis of Phthalates by an Arthrobacter Strain Isolated from Constructed Wetland Soil ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 98 (10): 4683-90. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5568-z>.
- West of England. 2015. « Sustainable Drainage Developer Guide, Section 1 ». <https://www.bristol.gov.uk/files/documents/2704-west-of-england-sustainable-drainage-developer-guide-section-1>.
- Wickham, H. 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Use R! Cham: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4>.
- Wiest, L., R. Baudot, F. Lafay, E. Bonjour, C. Becouze-Lareure, J-B. Aubin, P. Jame, et al. 2018. « Priority Substances in Accumulated Sediments in a Stormwater Detention Basin from an Industrial Area ». *Environmental Pollution* 243: 1669-78. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.09.138>.
- Willis, A. D. 2019. « Rarefaction, Alpha Diversity, and Statistics ». *Frontiers in Microbiology* 10: 2407. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02407>.
- Winiarski, T. 2006. « The Impact of Stormwater on a Soil Profile in an Infiltration Basin ». *Hydrogeology Journal* 14: 1244-51. <https://doi.org/10.1007/s10040-006-0073-9>.
- Woods Ballard, B., S. Wilson, H. Udale-Clarke, S. Illman, T. Scott, R. Ashley, et R. Kellagher. 2015. *The SuDS Manual*. CIRIA C754. London, UK: CIRIA.
- World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, et International Atomic Energy Agency, éd. 1996. *Trace Elements in Human Nutrition and Health*. Geneva: World Health Organization.
- Wu, H., J. Fan, J. Zhang, H. H. Ngo, W. Guo, S. Liang, Z. Hu, et H. Liu. 2015. « Strategies and Techniques to Enhance Constructed Wetland Performance for Sustainable Wastewater Treatment ». *Environmental Science and Pollution Research* 22 (19): 14637-50. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5151-x>.
- Wu, K., C. Dumat, H. Li, H. Xia, Z. Li, et J. Wu. 2019a. « Responses of soil microbial community and enzymes during plant-assisted biodegradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate and pyrene ». *International Journal of Phytoremediation* 21 (7): 683-92. <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1556586>.
- . 2019b. « Responses of Soil Microbial Community and Enzymes during Plant-Assisted Biodegradation of Di-(2-Ethylhexyl) Phthalate and Pyrene ». *International Journal of Phytoremediation* 21 (7): 683-92. <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1556586>.
- Wu, Q-S., éd. 2017. *Arbuscular Mycorrhizas and Stress Tolerance of Plants*. Singapore: Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-4115-0>.
- Wu, X., R. Liang, Q. Dai, D. Jin, Y. Wang, et W. Chao. 2010. « Complete Degradation of Di-n-Octyl Phthalate by Biochemical Cooperation between Gordonia Sp. Strain JDC-2 and Arthrobacter Sp. Strain JDC-32 Isolated from Activated Sludge ». *Journal of Hazardous Materials* 176 (1-3): 262-68. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.11.022>.

- Xiang, S-R., A. Doyle, P. A. Holden, et J. P. Schimel. 2008. « Drying and Rewetting Effects on C and N Mineralization and Microbial Activity in Surface and Subsurface California Grassland Soils ». *Soil Biology and Biochemistry* 40 (9): 2281-89. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.05.004>.
- Xie, H-J., Y-J. Shi, J. Zhang, Y. Cui, S-X. Teng, S-G. Wang, et R. Zhao. 2010. « Degradation of Phthalate Esters (PAEs) in Soil and the Effects of PAEs on Soil Microcosm Activity ». *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 85 (8): 1108-16. <https://doi.org/10.1002/jctb.2406>.
- Xing, J., S. Zhang, M. Zhang, et J. Hou. 2022. « A Critical Review of Presence, Removal and Potential Impacts of Endocrine Disruptors Bisphenol A ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 254: 109275. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2022.109275>.
- Xu, G., F. Li, et Q. Wang. 2008. « Occurrence and Degradation Characteristics of Dibutyl Phthalate (DBP) and Di-(2-Ethylhexyl) Phthalate (DEHP) in Typical Agricultural Soils of China ». *Science of The Total Environment* 393 (2-3): 333-40. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.01.001>.
- Xu, J., L. Wu, et A. C. Chang. 2009. « Degradation and Adsorption of Selected Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in Agricultural Soils ». *Chemosphere* 77 (10): 1299-1305. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.09.063>.
- Xu, P., C. Lai, G. Zeng, D. Huang, M. Chen, B. Song, X. Peng, et al. 2018. « Enhanced Bioremediation of 4-Nonylphenol and Cadmium Co-Contaminated Sediment by Composting with Phanerochaete Chrysosporium Inocula ». *Bioresour. Technology* 250: 625-34. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.069>.
- Xu, W., Z. Ge, et D. R. Poudel. 2015. « Application and Optimization of Biolog EcoPlates in Functional Diversity Studies of Soil Microbial Communities ». Édité par J. Y. Li, T. Y. Liu, T. Deng, et M. Tian. *MATEC Web of Conferences* 22: 04015. <https://doi.org/10.1051/mateconf/20152204015>.
- Yang, Y., J. Wang, J. Liao, et S. Xie. 2014. « Distribution of Naphthalene Dioxygenase Genes in Crude Oil-Contaminated Soils ». *Microbial ecology* 68 (4): 785-93. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0457-7>.
- Yang, Y., Z. Wang, T. He, Y. Dai, et S. Xie. 2015. « Sediment Bacterial Communities Associated with Anaerobic Biodegradation of Bisphenol A ». *Microbial Ecology* 70 (1): 97-104. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0551-x>.
- Yang, Z., Y. Shi, Y. Zhang, Q. Cheng, X. Li, C. Zhao, et D. Zhang. 2018. « Different Pathways for 4-n-Nonylphenol Biodegradation by Two Aspergillus Strains Derived from Estuary Sediment: Evidence from Metabolites Determination and Key-Gene Identification ». *Journal of Hazardous Materials* 359: 203-12. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.058>.
- Ying, G. G., et R. S. Kookana. 2005. « Sorption and Degradation of Estrogen-like-Endocrine Disrupting Chemicals in Soil ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 24 (10): 2640-45. <https://doi.org/10.1897/05-074R.1>.
- Yu, G., G. Wang, T. Chi, C. Du, J. Wang, P. Li, Y. Zhang, et al. 2022. « Enhanced Removal of Heavy Metals and Metalloids by Constructed Wetlands: A Review of Approaches and Mechanisms ». *Science of The Total Environment* 821: 153516. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153516>.
- Yuan, C., A. P. Davis, D. Kaya, et B. V. Kjellerup. 2023. « Distribution and Biodegradation Potential of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Accumulated in Media of a Stormwater Bioretention ». *Chemosphere* 336: 139188. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139188>.
- Yuan, S. Y., C. H. Yu, et B. V. Chang. 2004. « Biodegradation of Nonylphenol in River Sediment ». *Environmental Pollution* 127 (3): 425-30. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2003.08.010>.
- Zaborowska, M., J. Wyszowska, et A. Borowik. 2020. « Soil Microbiome Response to Contamination with Bisphenol A, Bisphenol F and Bisphenol S ». *International Journal of Molecular Sciences* 21 (10): 3529. <https://doi.org/10.3390/ijms21103529>.
- Zgheib, S. 2009. « Fluxes and sources of priority pollutants in urban water associated with different land use pattern ». Thèse de doctorat, Ecole des Ponts ParisTech. <https://pastel.archives-ouvertes.fr/pastel-00554932>.
- Zgheib, S., R. Moillon, et G. Chebbo. 2012. « Priority Pollutants in Urban Stormwater: Part 1 – Case of Separate Storm Sewers ». *Water Research* 46 (20): 6683-92. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.12.012>.
- Zhalnina, K., R. Dias, P. D. De Quadros, A. Davis-Richardson, F. A. O. Camargo, I. M. Clark, S. P. McGrath, P. R. Hirsch, et E. W. Triplett. 2015. « Soil pH Determines Microbial Diversity and Composition in the Park Grass Experiment ». *Microbial Ecology* 69 (2): 395-406. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0530-2>.
- Zhang, C., Y. Li, C. Wang, L. Niu, et W. Cai. 2016b. « Occurrence of endocrine disrupting compounds in aqueous environment and their bacterial degradation: A review ». *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 46 (1): 1-59. <https://doi.org/10.1080/10643389.2015.1061881>.
- Zhang, K., A. Randelovic, D. Page, D. T. McCarthy, et A. Deletic. 2014. « The validation of stormwater biofilters for micropollutant removal using in situ challenge tests ». *Ecological Engineering* 67: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.03.004>.
- Zhang, L., et Z. Xu. 2008. « Assessing Bacterial Diversity in Soil: A Brief Review ». *Journal of Soils and Sediments* 8 (6): 379-88. <https://doi.org/10.1007/s11368-008-0043-z>.
- Zhang, S., S. Pang, P. Wang, C. Wang, C. Guo, F. G. Addo, et Y. Li. 2016. « Responses of Bacterial Community Structure and Denitrifying Bacteria in Biofilm to Submerged Macrophytes and Nitrate ». *Scientific Reports* 6 (1): 36178. <https://doi.org/10.1038/srep36178>.
- Zhang, W., K. Yin, et L. Chen. 2013. « Bacteria-Mediated Bisphenol A Degradation ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 97 (13): 5681-89. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4949-z>.
- Zhang, Z., B. Cui, et X. Fan. 2012. « Removal Mechanisms of Heavy Metal Pollution from Urban Runoff in Wetlands ». *Frontiers of Earth Science* 6 (4): 433-44. <https://doi.org/10.1007/s11707-012-0301-7>.
- Zhao, C., J. Xu, D. Shang, Y. Zhang, J. Zhang, H. Xie, Q. Kong, et Q. Wang. 2021. « Application of Constructed Wetlands in the PAH Remediation of Surface Water: A Review ». *Science of The Total Environment* 780: 146605. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146605>.

- Zhao, J., G. Zhang, Y. Qin, et Y. Zhao. 2006. « Aerobic biodegradation of alkylphenol ethoxylates ». *Bioresource Technology* 97 (18): 2478-80. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.10.017>.
- Zheng, G., T. Wang, M. Niu, X. Chen, C. Liu, Y. Wang, et T. Chen. 2018. « Biodegradation of nonylphenol during aerobic composting of sewage sludge under two intermittent aeration treatments in a full-scale plant ». *Environmental Pollution* 238: 783-91. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.03.112>.
- Zhou, Q. H., Z. B. Wu, S. P. Cheng, F. He, et G. P. Fu. 2005. « Enzymatic Activities in Constructed Wetlands and Di-n-Butyl Phthalate (DBP) Biodegradation ». *Soil Biology and Biochemistry* 37 (8): 1454-59. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.01.003>.
- Zhu, F., C. Zhu, E. Doyle, H. Liu, D. Zhou, et J. Gao. 2018. « Fate of Di (2-ethylhexyl) Phthalate in Different Soils and Associated Bacterial Community Changes ». *Science of The Total Environment* 637-638: 460-69. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.055>.
- Zuo, X., H. Zhang, et J. Yu. 2020. « Microbial Diversity for the Improvement of Nitrogen Removal in Stormwater Bioretention Cells with Three Aquatic Plants ». *Chemosphere* 244: 125626. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125626>.

ANNEXES

PARTIE 1

Annexe 1-1 : Liste des 45 substances prioritaires définies par la Directive Cadre sur l'Eau (issu de la Directive 2013/39/UE).

| Number | CAS number (1) | EU number (2) | Name of priority substance (3) | Identified as priority hazardous substance |
|--------|----------------|----------------|-------------------------------------|--|
| (1) | 15972-60-8 | 240-110-8 | Alachlor | |
| (2) | 120-12-7 | 204-371-1 | Anthracene | X |
| (3) | 1912-24-9 | 217-617-8 | Atrazine | |
| (4) | 71-43-2 | 200-753-7 | Benzene | |
| (5) | not applicable | not applicable | Brominated diphenylethers | X (4) |
| (6) | 7440-43-9 | 231-152-8 | Cadmium and its compounds | X |
| (7) | 85535-84-8 | 287-476-5 | Chloroalkanes, C ₁₀₋₁₃ | X |
| (8) | 470-90-6 | 207-432-0 | Chlorfenvinphos | |
| (9) | 2921-88-2 | 220-864-4 | Chlorpyrifos (Chlorpyrifos-ethyl) | |
| (10) | 107-06-2 | 203-458-1 | 1,2-dichloroethane | |
| (11) | 75-09-2 | 200-838-9 | Dichloromethane | |
| (12) | 117-81-7 | 204-211-0 | Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) | X |
| (13) | 330-54-1 | 206-354-4 | Diuron | |
| (14) | 115-29-7 | 204-079-4 | Endosulfan | X |
| (15) | 206-44-0 | 205-912-4 | Fluoranthene | |
| (16) | 118-74-1 | 204-273-9 | Hexachlorobenzene | X |
| (17) | 87-68-3 | 201-765-5 | Hexachlorobutadiene | X |
| (18) | 608-73-1 | 210-168-9 | Hexachlorocyclohexane | X |
| (19) | 34123-59-6 | 251-835-4 | Isoproturon | |
| (20) | 7439-92-1 | 231-100-4 | Lead and its compounds | |
| (21) | 7439-97-6 | 231-106-7 | Mercury and its compounds | X |
| (22) | 91-20-3 | 202-049-5 | Naphthalene | |
| (23) | 7440-02-0 | 231-111-4 | Nickel and its compounds | |
| (24) | not applicable | not applicable | Nonylphenols | X (5) |
| (25) | not applicable | not applicable | Octylphenols (6) | |
| (26) | 608-93-5 | 210-172-0 | Pentachlorobenzene | X |
| (27) | 87-86-5 | 201-778-6 | Pentachlorophenol | |
| (28) | not applicable | not applicable | Polyaromatic hydrocarbons (PAH) (7) | X |
| (29) | 122-34-9 | 204-535-2 | Simazine | |
| (30) | not applicable | not applicable | Tributyltin compounds | X (8) |

| Number | CAS number (1) | EU number (2) | Name of priority substance (3) | Identified as priority hazardous substance |
|--------|-----------------------|-------------------------|--|--|
| (31) | 12002-48-1 | 234-413-4 | Trichlorobenzenes | |
| (32) | 67-66-3 | 200-663-8 | Trichloromethane (chloroform) | |
| (33) | 1582-09-8 | 216-428-8 | Trifluralin | X |
| (34) | 115-32-2 | 204-082-0 | Dicofol | X |
| (35) | 1763-23-1 | 217-179-8 | Perfluorooctane sulfonic acid and its derivatives (PFOS) | X |
| (36) | 124495-18-7 | not applicable | Quinoxifen | X |
| (37) | not applicable | not applicable | Dioxins and dioxin-like compounds | X (4) |
| (38) | 74070-46-5 | 277-704-1 | Aclonifen | |
| (39) | 42576-02-3 | 255-894-7 | Bifenox | |
| (40) | 28159-98-0 | 248-872-3 | Cybutryne | |
| (41) | 52315-07-8 | 257-842-9 | Cypermethrin (10) | |
| (42) | 62-73-7 | 200-547-7 | Dichlorvos | |
| (43) | not applicable | not applicable | Hexabromocyclododecanes (HBCDD) | X (11) |
| (44) | 76-44-8/ 1024-57-3 | 200-962-3/ 213-831-0 | Heptachlor and heptachlor epoxide | X |
| (45) | 886-50-0 | 212-950-5 | Terbutryn | |

(1) CAS: Chemical Abstracts Service.

(2) EU-number: European Inventory of Existing Commercial Substances (EINECS) or European List of Notified Chemical Substances (ELINCS).

(3) Where groups of substances have been selected, unless explicitly noted, typical individual representatives are defined in the context of the setting of environmental quality standards.

(4) Only Tetra, Penta, Hexa and Heptabromodiphenylether (CAS -numbers 40088-47-9, 32534-81-9, 36483-60-0, 68928-80-3, respectively).

(5) Nonylphenol (CAS 25154-52-3, EU 246-672-0) including isomers 4-nonylphenol (CAS 104-40-5, EU 203-199-4) and 4-nonylphenol (branched) (CAS 84852-15-3, EU 284-325-5).

(6) Octylphenol (CAS 1806-26-4, EU 217-302-5) including isomer 4-(1,1',3,3'-tetramethylbutyl)-phenol (CAS 140-66-9, EU 205-426-2).

(7) Including benzo(a)pyrene (CAS 50-32-8, EU 200-028-5), benzo(b)fluoranthene (CAS 205-99-2, EU 205-911-9), benzo(g,h,i)perylene (CAS 191-24-2, EU 205-883-8), benzo(k)fluoranthene (CAS 207-08-9, EU 205-916-6), indeno(1,2,3-cd)pyrene (CAS 193-39-5, EU 205-893-2) and excluding anthracene, fluoranthene and naphthalene, which are listed separately.

(8) Including tributyltin-cation (CAS 36643-28-4).

(9) This refers to the following compounds:

7 polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs): 2,3,7,8-T4CDD (CAS 1746-01-6), 1,2,3,7,8-P5CDD (CAS 40321-76-4), 1,2,3,4,7,8-H6CDD (CAS 39227-28-6), 1,2,3,6,7,8-H6CDD (CAS 57653-85-7), 1,2,3,7,8,9-H6CDD (CAS 19408-74-3), 1,2,3,4,6,7,8-H7CDD (CAS 35822-46-9), 1,2,3,4,6,7,8,9-O8CDD (CAS 3268-87-9)

10 polychlorinated dibenzofurans (PCDFs): 2,3,7,8-T4CDF (CAS 51207-31-9), 1,2,3,7,8-P5CDF (CAS 57117-41-6), 2,3,4,7,8-P5CDF (CAS 57117-31-4), 1,2,3,4,7,8-H6CDF (CAS 70648-26-9), 1,2,3,6,7,8-H6CDF (CAS 57117-44-9), 1,2,3,7,8,9-H6CDF (CAS 72918-21-9), 2,3,4,6,7,8-H6CDF (CAS 60851-34-5), 1,2,3,4,6,7,8-H7CDF (CAS 67562-39-4), 1,2,3,4,7,8,9-H7CDF (CAS 55673-89-7), 1,2,3,4,6,7,8,9-O8CDF (CAS 39001-02-0)

12 dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCB-DL): 3,3',4,4'-T4CB (PCB 77, CAS 32598-13-3), 3,3',4',5'-T4CB (PCB 81, CAS 70362-50-4), 2,3,3',4,4'-P5CB (PCB 105, CAS 32598-14-4), 2,3,4,4',5'-P5CB (PCB 114, CAS 74472-37-0), 2,3',4,4',5'-P5CB (PCB 118, CAS 31508-00-6), 2,3',4,4',5'-P5CB (PCB 123, CAS 65510-44-3), 3,3',4,4',5'-P5CB (PCB 126, CAS 57465-28-8), 2,3,3',4,4',5'-H6CB (PCB 156, CAS 38380-08-4), 2,3,3',4,4',5'-H6CB (PCB 157, CAS 69782-90-7), 2,3',4,4',5,5'-H6CB (PCB 167, CAS 52663-72-6), 3,3',4,4',5,5'-H6CB (PCB 169, CAS 32774-16-6), 2,3,3',4,4',5,5'-H7CB (PCB 189, CAS 39635-31-9).

(10) CAS 52315-07-8 refers to an isomer mixture of cypermethrin, alpha-cypermethrin (CAS 67375-30-8), beta-cypermethrin (CAS 65731-84-2), theta-cypermethrin (CAS 71697-59-1) and zeta-cypermethrin (52315-07-8).

(11) This refers to 1,3,5,7,9,11-Hexabromocyclododecane (CAS 25637-99-4), 1,2,5,6,9,10- Hexabromocyclododecane (CAS 3194-55-6), alpha-Hexabromocyclododecane (CAS 134237-50-6), beta-Hexabromocyclododecane (CAS 134237-51-7) and gamma-Hexabromocyclododecane (CAS 134237-52-8).

Annexe 1-2 : Présentation et définition des propriétés physico-chimiques des polluants importantes à considérer.

● La **solubilité (S_w)** : il s'agit de la concentration de saturation d'une substance dans l'eau à une température donnée. Elle est exprimée en masse du composé dissous par volume de solution (mg/L ou g/L) et permet de savoir quelle masse peut être dissoute dans un volume donné. De façon générale, plus la température augmente, plus la solubilité augmente également. Une substance est considérée comme réellement soluble lorsque la solubilité est supérieure 1 g/L, et insoluble lorsqu'elle est inférieure à 0,1 mg/L (Figure 1).

● La **pression de vapeur (P_{vap})** : il s'agit de la pression de saturation au-dessus de laquelle une substance est sous forme solide ou liquide, à une température donnée. Elle est exprimée en Pascal (Pa), et plus la pression de vapeur est élevée, plus la volatilité de la substance est élevée. Ainsi, une substance est considérée comme volatile si sa pression de vapeur est supérieure à 1000 Pa (Figure 1).

● La **constante de Henry (K_H)** : cette constante caractérise la capacité d'une substance à se partager entre les phases liquide et gazeuse. Cela traduit donc le ratio entre la pression de vapeur et la solubilité. La constante de Henry est un nombre sans unité ou bien exprimée en Pa.m³/mol :

$$K_H = \frac{[C_{gaz}]_{\text{équilibre}}}{[C_{eau}]_{\text{équilibre}}}$$

Plus la constante est élevée, plus une substance est volatile. Ainsi, une substance est dite volatile si sa constante de Henry est supérieure à 1013 Pa.m³/mol (Figure 1).

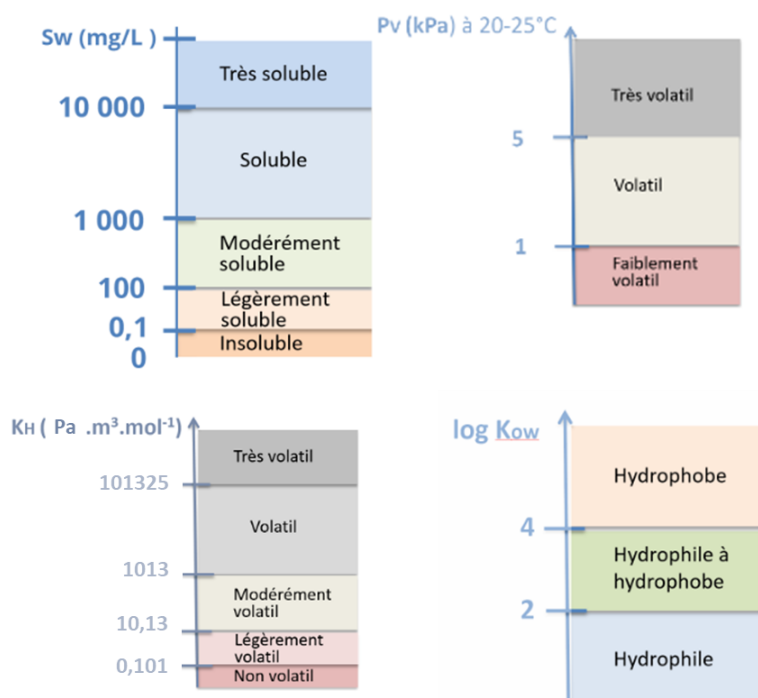


Figure 1 : Valeurs seuils d'intensité des différents paramètres. S_w = Solubilité ; P_v = Pression de vapeur ; K_H = Constante de Henry ; K_{ow} = Coefficient de partage octanol/eau. Figures issues de <http://chimactiv.agroparistech.fr>

● Le **coefficient de partage n-octanol/eau (K_{ow})** : il s'agit d'un indice de l'hydrophobicité d'une substance. La mesure de la répartition de la substance entre l'eau et l'octanol, deux solvants non miscibles, permet d'obtenir ce coefficient à l'aide de l'équation suivante :

$$K_{ow} = \frac{[C_{octanol}]_{\text{équilibre}}}{[C_{eau}]_{\text{équilibre}}}$$

Ce coefficient de partage sans unité est donc le quotient de deux concentrations de la substance, il est le plus souvent exprimé en logarithme de base 10 ($\log K_{ow}$). Plus le composé est hydrophobe, plus son K_{ow} est élevé. Ainsi, une substance est dite hydrophile si le $\log K_{ow}$ est inférieur à 2 et hydrophobe s'il est supérieur à 4 (hydrophile à hydrophobe entre 2 et 4) (Figure 1).

● Le **coefficient d'adsorption (K_d)** : Il s'agit de l'indice d'hydrophobicité d'une substance qui mesure sa quantité adsorbée sur le sol ou sédiment par quantité d'eau. Il mesure donc le rapport des concentrations à l'équilibre d'une substance dissoute dans un système solide et liquide :

$$K_d = \frac{[C_{sol}]_{\text{équilibre}}}{[C_{eau}]_{\text{équilibre}}}$$

Cet indice est surtout utilisé pour évaluer la mobilité des **métaux** dans les sols. En effet, les valeurs de K_d peuvent varier selon le contenu de carbone organique du sol ou sédiment, qui n'est pas pris en compte dans l'équation. Pour les ETM l'adsorption ne se déroule pas uniquement sur le carbone organique, mais pour les substances organiques, l'adsorption dépendra surtout des teneurs en carbone organique. C'est pourquoi, un autre indice existe pour prendre en compte le carbone organique.

● Le **coefficient de partage carbone organique/eau (K_{oc})**. Il s'agit d'un autre indice d'hydrophobicité d'une substance appliqué aux sols et sédiment, entre le carbone organique du sol et l'eau. Il est donc fonction de la teneur en carbone organique (la fraction de carbone organique f_{cot}) et permet de déterminer la répartition d'un composé entre l'eau et le solide. Ce coefficient est sans dimension mais peut être exprimé en L/kg :

$$K_{oc} = \frac{[Quantité_{adsorbée} / Masse_{C\text{ organique du sol}}]_{\text{équilibre}}}{[C_{eau}]_{\text{équilibre}}}$$

L'affinité des substances organiques dépend fortement des teneurs en carbone organique, ainsi ce coefficient est surtout utilisé. Il peut également être calculé selon le produit de la fraction de carbone organique (f_{cot}) et le K_{ow} .

Plus le composé s'adsorbe au solide, plus le K_{oc} est élevé, ainsi, une substance est considérée comme mobile si le $\log K_{oc}$ est inférieur à 2 (K_{oc} de 100) moyennement mobile si le $\log K_{oc}$ est compris entre 2 et 2,7 et peu mobile si le $\log K_{oc}$ est supérieur à 2,7 (K_{oc} de 500) (Dulio et Andres, 2014).

Finalement, ces différents paramètres sont utilisés selon la nature de la substance. Une **substance pure** sera surtout caractérisée par la pression de vapeur et la solubilité, une **substance dissoute** par la constante de Henry et le coefficient de partage octanol/eau et une **substance arrivant dans un milieu solide** sera surtout caractérisée par le coefficient de partage K_D ou K_{oc} selon s'il s'agit d'une substance métallique ou organique.

Annexe 1-3 : Tableau des utilisations des alkylphénols et bisphénol-A susceptibles de rentrer en contact avec de l'eau de pluie (issu de Lamprea et al., 2017).

| NP : secteurs d'activité | Applications |
|--|--|
| Fabrication de NPEO (nonylphénols éthoxylés) | <ul style="list-style-type: none"> - Fabrication de plastiques par émulsion (SBR*, PVC*, Polyvinyle acétate*) utilisées comme résines en peintures, ciments modifiés et pour la fabrication de pneumatiques (SBR). - Fabrication de sulfates d'éther de nonylphénol employés comme additifs de certains types de béton. - Fabrication d'additifs pour fluides lubrifiants et pour carburants. - Entraîneur d'air employé dans la fabrication du béton. - Employé dans les émulsions de bitume. - Agents mouillants, émulsifiants et dispersants dans les laques, les vernis et les peintures (notamment dans l'eau). |
| Production de résines phénoliques | <ul style="list-style-type: none"> - Agent d'adhérence dans le caoutchouc des pneus (SBR, EPDM*, BR*). |
| Production de résines époxydes (Catalyseur dans le durcissement) | <ul style="list-style-type: none"> - Employés comme revêtement de sols, sols composites, armatures en acier des bâtiments (ex : panneau sandwich) et de surfaces métalliques en contact avec l'eau. - Stabilisant de peintures à base de résines vinyliques utilisées pour les façades, toitures et comme peintures anti-corrosion. |
| Production de TNPP (trinonylphénol phosphite). | <ul style="list-style-type: none"> - Stabilisateur pour caoutchoucs naturels et synthétiques (SBR, EPDM), polymères vinyliques, polystyrène, polycarbonate. |
| OP : secteurs d'activité | Applications |
| Fabrication des OPEO (octylphénols éthoxylés) | <ul style="list-style-type: none"> - Agent émulsifiant pour la synthèse de polymères comme les acryliques et le vinylacrylique employés comme résines pour peintures de façades, toitures, anti-corrosion. |
| Production de résines formophénoliques | <ul style="list-style-type: none"> - Agent d'adhérence dans le caoutchouc des pneus. |
| BPA : secteurs d'activité | Applications |
| Production de polycarbonate | <ul style="list-style-type: none"> - Secteur de la construction : fabrication de couverture de toits, vérandas, bardages, panneaux solaires, serres, - Secteur automobile : les phares avant de voitures, les pare-chocs, les pare-brises de motos, les modules de toit des voitures convertibles, grilles de radiateur. |
| Production de résines époxy | <ul style="list-style-type: none"> - Employés comme revêtement de sols, sols composites, armatures en acier des bâtiments et de surfaces métalliques. - Stabilisant de peintures à base de résines vinyliques utilisées pour les façades, toitures et comme peintures anti-corrosion dans les véhicules (sous-couche). |
| Antioxydant et inhibiteur dans la production de PVC* | <ul style="list-style-type: none"> - Employé dans la fabrication de plusieurs matériaux de construction tels que fenêtres, portes, revêtements, tuyaux, gouttières, volets. |
| Production de TBBPA (Tétrabromobisphénol A) | <ul style="list-style-type: none"> - Retardateur de flamme et antioxydant dans les liquides de frein. |
| Production de résines phénoliques | <ul style="list-style-type: none"> - Agent d'adhérence dans le caoutchouc des pneus (SBR, EPDM, BR). |
| Industrie de peintures | <ul style="list-style-type: none"> - Durcisseur de peintures. |
| Industrie automobile | <ul style="list-style-type: none"> - Ajouté à des liquides de frein à une concentration inférieure à 1 %. - Antioxydant dans la matrice de polymère de pneus. - Ajouté aux produits d'entretiens de véhicules à une concentration de 0,3 - 1 %. |

*SBR : caoutchouc styrène-butadiène, EPDM : Ethylène propylène diène monomère, BR : caoutchouc polybutadiène, PVC : chlorure de polyvinyle

1. Définition

Les **Phtalates (PAE)** ou bien esters d'acide phtalique sont des composés organiques d'origine exclusivement **anthropique** constitués d'un noyau benzénique et de deux groupements ester dont la taille de la chaîne alkyle peut varier. La Figure 1 présente les PAE les plus étudiés dans l'environnement ainsi que leur structure chimique. Pour classer les PAE, la **taille des chaînes alkyle** est utilisée ; les PAE ayant moins de 8 atomes de carbone sont considérés comme des PAE à chaînes courtes et ceux en ayant 8 ou plus sont des PAE à longues chaînes (ANSES, 2015). Ainsi, le diméthyl phtalate (DMP), diethyl phtalate (DEP), di-isobutyl phtalate (DiBP), dibutyle phtalate (DBP) et bis(2-ethylhexyl) phtalate (DEHP) sont des PAE à chaînes courtes tandis que le Dinonyl phtalate (DNP) est un PAE à longues chaînes. Les phtalates sont produits pour une grande variété d'utilisation depuis les années 1960 et le **DEHP** est le PAE le plus produit dans le monde (Deshayes, 2015). Ils sont essentiellement utilisés comme **additif plastifiant** dans la fabrication de polymères, notamment le PVC. On les retrouve également dans les adhésifs, les revêtements de sol en vinyle, les huiles lubrifiantes, les solvants et de nombreux autres objets (INSERM, 2011). Le DEHP est le PAE le plus réglementé.

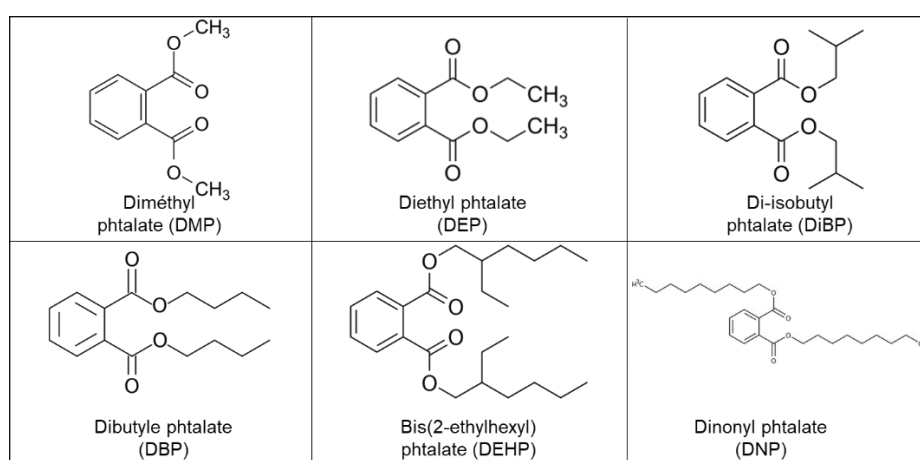


Figure 1 : Structure des phtalates (et leurs abréviations).

2. Propriétés physico-chimiques

Concernant les propriétés physico-chimiques des différents phtalates, le Tableau 1 synthétise ces valeurs. Premièrement, leurs propriétés sont contrastées ; la solubilité diminue avec l'augmentation de la masse molaire, le DMP est très soluble, suivi du DEP qui est modérément soluble, le DiBP et DBP sont légèrement solubles et le DEHP et DNP sont insolubles. Les faibles valeurs de pression de vapeur et de constante de Henry font des PAE des composés non volatils, excepté pour le DEHP qui montre une constante de Henry plus élevée que les autres, étant alors considéré comme légèrement volatil. L'hydrophobicité de ces molécules varie également avec la masse volumique en augmentant. Ainsi, le DMP et DEP sont peu hydrophobes, le DMP ayant la plus forte tendance à l'hydrophilie, et le DiBP, DBP, DEHP et DNP sont hydrophobes ($\log K_{ow} > 4$) avec des valeurs croissantes allant de 4,11 à 9,52. Les PAE auront donc également une tendance à se retrouver dans la fraction particulaire de l'eau. Le $\log K_{oc}$ montre la même tendance, avec une affinité croissante au carbone organique passant de 1,5 à 5,82 ; mis à part le DMP, les autres PAE seront donc peu mobiles dans les sols.

La répartition dissout/particulaire dans les eaux de ruissellement a été peu étudiée ; les mesures de Flanagan et al. (2018) ont montré que le DMP était essentiellement retrouvé dans la fraction dissoute des eaux contrairement aux autres PAE, ce qui est cohérent avec leurs propriétés physico-chimiques. Le DEHP et DNP sont les PAE ayant le plus d'affinité avec la phase particulaire (72 et 92 % sous forme particulaire respectivement). Enfin, comme les HAP, les AP et le BPA, la nature destructive de ces composés conduit à leur dégradation. Celle-ci est largement détaillée dans le chapitre 3.2 de cette synthèse bibliographique.

Tableau 1 : Caractéristiques physico-chimiques des phtalates. La solubilité, constante de Henry et pression de vapeur sont données pour une température de 25°C. (a) INERIS database, 2023 ; (b) ECHA database, 2023 ; (c) Staples et al., 1997 ; (d) PubChem Database, 2023 ; (e) Flanagan et al., 2018.

| Famille | Nom de la molécule | Abréviation | Formule chimique brute | N° CAS | Masse molaire (g/mol) | S _w (mg/L) | P _{vap} (Pa) | K _h (Pa.m3/mol) | Répartition dissous/particulaire (% particulaire) | Log K _{ow} (min-max ou valeur unique) | Log K _{oc} |
|-----------------|----------------------------|-------------|------------------------|----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|---|--|---------------------|
| Phtalates (PAE) | Diméthyl phtalate | DMP | C10H10O4 | 131-11-3 | 194,2 | 4000 (b) | 0,13 (b) | 0,01 (c) | 27 (e) | 1,6 (a) | 1,50 (a) |
| | Diéthyl phtalate | DEP | C12H14O4 | 84-66-2 | 222,24 | 932 (b) | 0,28 (b) | 0,03 (c) | - | 2,47 (a) | 2,02 (b) |
| | Di-isobutyl phtalate | DiBP | C16H22O4 | 84-69-5 | 278,4 | 11,5-20,3 (b) | - | 0,02 (c) | 56 (e) | 4,11-4,45 (b) | 2,91 (a) |
| | Dibutyle phtalate | DBP | C16H22O4 | 84-74-2 | 278,3 | 10 (a) | 0,01 (a) | 0,09 (c) | 40 (e) | 4,46 - 4,79 (b) | 3,80 (a) |
| | Bis(2-ethylhexyl) phtalate | DEHP | C24H38O4 | 117-81-7 | 390,6 | 0,003 (a) | 3,4E-05 (a) | 1,73 (c) | 72 (e) | 7,5 (a) | 5,22 (a) |
| | Dinonyl phtalate | DNP | C26H42O4 | 84-76-4 | 418,6 | 1,73E-05 (d) | - | - | 92 (e) | 9,52 (d) | 5,82 (d) |

3. Toxicité

Les phtalates sont depuis novembre 2021 considérés comme des perturbateurs endocriniens, avec le DEHP, DBP, BBP et DiBP de cités (ECHA, 2023), même si cette propriété était déjà mise en avant dès la fin du 20^{ème} siècle (Ema et al., 1995 ; Kavlock et al., 2002). Ces quatre composés cités sont considérés comme des substances extrêmement préoccupantes en raison de leur toxicité pour la reproduction, tout comme le BPA et les AP et le DBP et BBP sont classé comme très toxiques pour la vie aquatique (ECHA, 2023). Globalement, les PAE à longues chaînes sont généralement considérés comme moins toxiques que ceux à chaînes courtes même s'ils ont été moins étudiés (ANSES, 2015).

Les études réalisées pour connaître la toxicité des PAE sont nombreuses et ont des méthodologies différentes ; ainsi, il est très complexe pour les organismes de conclure sur les effets des PAE sur les espèces vivantes. Chez l'homme adulte, de nombreuses études ont trouvé un lien entre les concentrations de phtalates dans les urines et une altération des paramètres du sperme ainsi qu'une augmentation de la fragmentation de l'ADN du gamète mâle. De plus, une relation entre des concentrations élevées de PAE et des concentrations basses de testostérone a également été montrée (ANSES, 2015). Sur les animaux, le rat a été surtout étudié. Les expositions aux PAE réalisées ont montré plusieurs effets à différents stades de développement : atteinte testiculaire et pathologies des organes sexuels mâles accessoires. La toxicité des différents PAE à faibles concentrations a donc été démontré. Pour finir, des métabolites, tel que le MEHP (un métabolite du DEHP) sont également toxiques pour les fonctions endocriniennes (Fournier, 2021).

4. Réglementation et concentrations dans les eaux de ruissellement

Le Tableau 2 montre les NQE ainsi que les concentrations en différents PAE mesurées dans les eaux de ruissellement de voirie. Premièrement, comme les AP et BPA, très peu de normes encadrent les phtalates, seul de DEHP est inscrit dans la DCE (European Union et Council of the European Union, 2013).



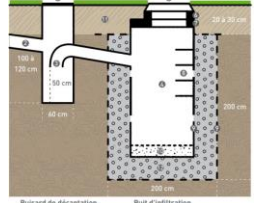

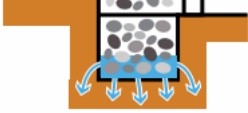


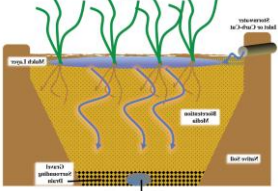
Tableau 2 : Concentrations totales minimum et maximum (concentrations dissoutes minimum et maximum) en phtalates observées dans les eaux de ruissellement de voirie (1) Stachel et al. (2010) ; (2) Björklund (2010) ; (3) Clara et al. (2010) ; (4) Flanagan et al. (2018) ; (5) Gasperi et al. (2022). Les normes de qualité environnementales (NQE) associées (MA : moyenne annuelle ; CMA : concentration maximale admissible) sont fournies. **Norme DCE 2013 (2013/39/UE).** Les eaux de ruissellement de voirie ont uniquement été mises dans ce tableau lorsque plusieurs eaux de ruissellement étaient étudiées.

| Composé | Concentrations (µg/L) min-max totales (min-max dissout) mesurées | NQE-MA (µg/L) | NQE-CMA (µg/L) |
|---------|--|---------------|----------------|
| DMP | 0,2 (2) | - | - |
| | <0,005 – 0,1 (3) | | |
| | 0,33-1,14 (<0,25-1) (4) | | |
| | 0,1-0,8 (5) | | |
| | 0,1-0,2 (2) | | |
| DEP | <0,02 – 0,27 (3) | - | - |
| | 1,2-21 (<0,52-7,5) (4) | | |
| DiBP | 1,1-8,3 (5) | - | - |
| | 0,11-0,3 (2) | | |
| DBP | < 0,025 – 0,079 (3) | - | - |
| | 0,6-21 (0,82-8,28) (4) | | |
| | 0,6-2,8 (5) | | |
| | 6-78 (1) | | |
| DEHP | 1,3-5 (2) | 1,3 | - |
| | 0,45 – 24 (3) | | |
| | 4,6-130 (0,88-12) (4) | | |
| | 4,2-53,5 (5) | | |
| | <0,14-12 (<0,11-0,95) (4) | | |
| DNP | 0,1-2,4 (5) | - | - |

Les PAE sont, comme les AP et BPA, faiblement mesurés dans les eaux de ruissellement de voirie (Stachel et al., 2010 ; Björklund, 2010 ; Clara et al., 2010 ; Flanagan et al., 2018 ; Gasperi et al., 2022). Les études ont tout de même montré que les concentrations sont généralement de l'ordre du ng/L et que le DEHP est le phtalate le plus souvent retrouvé et en concentrations les plus élevées (entre 0,45 et 130 µg/L). En effet, les valeurs minimales du DEHP mesurées dans les différentes études sont toutes supérieures à la NQE sauf une (Clara et al., 2010) et les valeurs maximales de DEHP mesurées dépassent entre 6,5 et 169 fois cette NQE. Enfin, en comparant les différentes concentrations des PAE, on constate une tendance à l'ordre suivant dans les eaux de ruissellement de voirie : DEHP > DiBP > DBP > DNP > DEP et DMP. Les autres PAE que le DEHP varient entre < 0,005 et 21 µg/L. Les PAE étaient donc généralement plus concentrés dans les eaux de ruissellement que les AP.

Pour conclure, les phtalates, tout comme les AP et BPA ne sont pas encore assez étudiés dans les eaux de ruissellement de voirie, alors qu'ils sont souvent détectés et les composés les plus concentrés pouvaient dépassaient les normes définies.

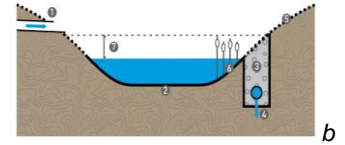
Annexe 1-5 : Les différents ouvrages de gestion des eaux pluviales utilisés pour traiter les eaux de ruissellement en milieu urbain. Description de l'ouvrage, principales fonctions et exemple au travers d'un schéma. a : West of England, 2015. b : SYMASOL, 2016. c : LeFevre et al., 2014. d : Vymazal, 2007.

| Nom | Description | Fonction | Représentation |
|---|---|--|---|
| Structure réservoir | Couche de matériaux poreux sous un revêtement classique de route (parking, voirie, trottoir etc.) permettant le stockage de l'eau, puis l'infiltration dans un sol ou vers un exutoire | Stockage, infiltration ou transport |  a |
| Revêtement perméable | Revêtement poreux ou ayant des ouvertures permettant l'infiltration directe de l'eau au travers de sa structure dans le sol sous-jacent, sans stockage | Infiltration |  a |
| Massif enterré | Couche de matériaux grossiers située sous la surface du sol, dispositif ponctuel pour stocker provisoirement l'eau et la restituer par infiltration ou vers un exutoire | Stockage, infiltration ou transport, évaporation | - |
| Puit d'infiltration | Ouvrage profond permettant la collecte de l'eau en amont du puit et stockage temporaire dans l'ouvrage constitué de matériaux poreux, qui permet finalement une infiltration dans le sol sous-jacent | Stockage, infiltration |  b |
| Tranchée drainante | Structure linéaire et faiblement profonde remplie de matériaux poreux, permettant la rétention des eaux puis leur évacuation par un drain vers un exutoire | Stockage, transport |  a |
| Tranchée d'infiltration | Structure linéaire et faiblement profonde remplie de matériaux poreux. Permet la rétention des eaux puis leur évacuation par infiltration dans le système | Stockage, infiltration |  a |
| Bande enherbée | Bande de terre en faible pente recouverte de végétation (herbe le plus souvent) servant de frein au ruissellement et permet l'infiltration dans le sol. Peut être utilisé en amont d'un ouvrage sensible aux particules | Stockage, infiltration, traitement |  a |
| Fossé | Structure linéaire assez profonde avec des rives abruptes permettant l'infiltration de l'eau dans le sol | Stockage, infiltration, traitement | - |
| Noüe | Fossé large et peu profond avec des rives en faible pente, généralement végétalisés, permettant le stockage et l'infiltration de l'eau dans le sol | Stockage, infiltration, traitement, (évapotranspiration) |  a |
| Jardin de pluie / cellule de biorétention | Petite dépression plantée de végétation ou d'arbre captant les eaux de ruissellement pour les infiltrer | Stockage, infiltration, traitement, évapotranspiration |  c |

Bassin d'infiltration/ de rétention

Dépression végétalisée sèche en période sèche et se remplissant par temps de pluie. L'eau s'infiltré alors dans l'ouvrage s'il n'est pas imperméabilisé (d'infiltration) ou sort par un exutoire (de rétention)

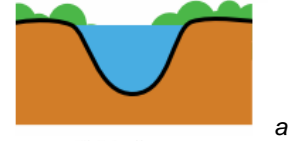
Stockage, infiltration ou transport, traitement



Mare de sédimentation

Plan d'eau recueillant les eaux de ruissellement et permettant la décantation des particules. Souvent utilisé en amont d'un ouvrage

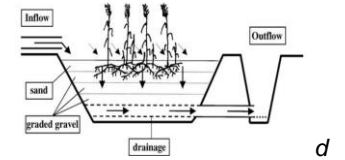
Stockage, traitement



Filtre Planté de Roseaux (FPR)

Excavation étanchéifiée puis remplie de plusieurs couches de matériaux filtrants de granulométrie croissante avec la profondeur, plantée de macrophytes dans laquelle l'eau s'infiltré et y est stockée jusqu'à sa sortie vers un exutoire

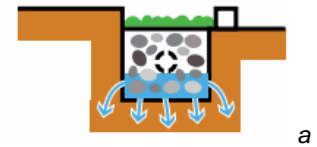
Stockage, infiltration, traitement, transport



Systèmes de biofiltration

Jardin de pluie, noue, jardin de pluie etc dont la composition du sol est spécifique pour permettre un traitement plus poussé des eaux de ruissellement, l'eau s'infiltré ensuite ou est acheminée vers un exutoire

Stockage, infiltration, traitement voire transport



Annexe 1-6 : Synthèse du « Guide de valorisation hors site des terres excavées issues de sites et sols potentiellement pollués dans des projets d'aménagement » mis en place par le BRGM, l'INERIS et le Ministère de la Transition Énergétique et Solidaire est alors utilisé (Coussy et al., 2020).

Trois niveaux sont proposés pour savoir quelle stratégie adopter face aux terres excavées. Le **niveau 1** est l'approche nationale ; les terres excavées peuvent être valorisées hors site selon différents usages si elles présentent des teneurs totales mesurées respectant les valeurs seuils suivante (Tableau 1) (ces valeurs ne sont pas des valeurs de gestion, il ne faut pas les utiliser en dehors de ce guide). Si les teneurs sont inférieures, les terres excavées peuvent alors être valorisée dans différents domaines (Figure 1).

Tableau 1 : Liste des valeurs seuils de niveau 1 pour les métaux et composés organiques, d'après Coussy et al. (2020). Il s'agit d'une liste a minima qui ne dispense pas d'évaluer chaque situation au cas par cas, lors d'une suspicion de pollution.

| Famille | Composé | Valeurs seuils de niveau 1 (mg/kg sec, analyse total) | Famille | Composé | Valeurs seuils de niveau 1 (mg/kg sec, analyse total) |
|---------------|---------|---|--|------------------------|---|
| Métaux | As | 25 | Composés organiques persistants | PCB (somme 7 composés) | 0,1 |
| | Ba | 150 | | Dioxines/furannes | 2 ng/kg |
| | Cd | 0,4 | | Somme 16 HAP | 10 |
| | Co | 20 | Hydrocarbures (HC) | HC C5-C10 | 40 |
| | Cr* | 90 | | HC C10-C40 | 50 |
| | Cu | 40 | BTEX | Benzène | 0,05 |
| | Hg | 0,1 | | Somme des TEX | 1,5 |
| | Mo | 1,5 | | Tétrachloroéthylène | 0,2 |
| | Ni | 60 | COHV | Trichloroéthylène | 0,1 |
| | Pb | 50 | | Cis-Dichloroéthylène | 0,1 |
| | Sb | 1 | HAP | Chlorure de vinyle | 0,1 |
| | Se | 1 | | Naphtalène | 0,1 |
| Zn | 150 | | | | |

* En cas de présence de Cr(VI) ou de mercure organique, il sera nécessaire d'adopter une démarche de niveau 3 et de ne pas prendre en compte les valeurs proposées dans ce tableau.

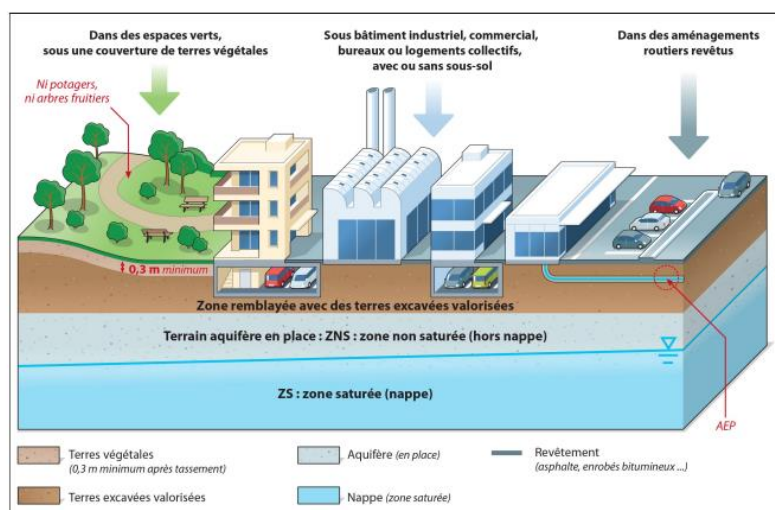


Figure 1 : Domaine d'emploi des terres excavées au niveau 1, d'après Coussy et al. (2020).

Pour la démarche **niveau 2**, les composés dépassant les valeurs du tableau uniquement doivent être comparées aux teneurs des substances constituant le fond pédo-géochimique local. Si le ou les composés dépassent les valeurs du fond pédo-géochimique, il faut alors réaliser une approche cas par

cas selon le niveau 3 pour ce ou ces composés. Si aucune base de données n'existe pour ce ou ces composés, il faut se référer à l'approche de niveau 3. En revanche, si le ou les composés ne dépassent pas ces valeurs, et que les autres valeurs respectent celles du Tableau 1, les terres excavées peuvent alors être valorisées hors site selon la Figure 1. Mais si une ou plusieurs valeurs seuils présentées dans le Tableau 1 sont dépassées, il faut poursuivre la démarche niveau 2. Il faut alors vérifier 3 conditions :

- Condition A : la qualité des sols du site receveur est maintenue, c'est-à-dire que la valorisation de terres excavées sur un site receveur n'est possible que si les substances caractérisées au sein des terres présentent des teneurs inférieures ou égales à celles caractérisant le fond pédo-géochimique du site receveur.

De nouvelles valeurs seuils sont alors définies, et si elles sont respectées, les usages suivants peuvent être définis (Figure 2).

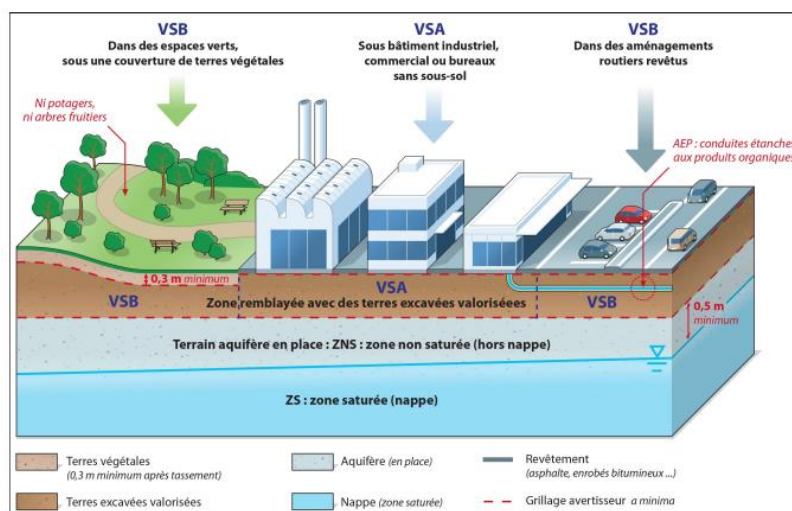


Figure 2 : Domaine d'emploi des terres excavées au niveau 2, d'après Coussy et al. (2020).

- Condition B : la qualité de la ressource en eau est maintenue et les écosystèmes sont préservés. Les terres doivent être valorisées à des distances définies des cours/plans d'eau et nappes

- Condition C : les caractéristiques chimiques des terres excavées sont compatibles sur le plan sanitaire avec l'usage futur du site receveur.

Si la démarche niveau 2 n'a pas permis de valider la valorisation des terres pour un ou plusieurs composés, il faut alors considérer une approche au cas par cas selon le **niveau 3** pour la ou les composés concernés. Pour cela, il faut d'abord caractériser le site receveur (non nécessaire pour les deux autres niveaux). Puis les 3 conditions doivent à nouveau être vérifiées : teneurs inférieures à celles du site receveur, absence d'impact sur les eaux (mais quelques différences sont détaillées) et compatibilité sanitaire selon les usages (selon différents critères spécifiques au niveau 3). Si cette dernière démarche n'a pas permis la possibilité de valoriser les terres pour un ou plusieurs composés, les terres ne pourront pas être valorisées selon le guide. Il faudra alors considérer d'autres voies de valorisation ou le passage par une installation de traitement. Le stockage seul du déchet n'est envisagé qu'en dernier recours.

Les plateformes hors site de valorisation de terres excavées (installations de tri, transit, regroupement ou installations de traitement) sont une solution de gestion des terres excavées avant leur valorisation sur un site receveur. Le choix de la plateforme de valorisation dépendra alors de la caractéristique des terres selon la réglementation des déchets (déchet inerte ou non, dangereux ou non). Cela relève alors de la réglementation sur les ICPE, selon le type de plateforme exploitée. Utiliser ce type de plateforme a plusieurs intérêts : gérer la temporalité d'un chantier à un autre, traiter les terres pour réduire les niveaux de pollution, cribler les terres pour valoriser plus facilement la fraction grossière. Cela permettrait finalement de pouvoir ensuite valoriser les terres selon le présent guide.

Annexe 1-7 : Les différentes fonctions des roseaux dans les filtres plantés à écoulement vertical (notamment d'après (Brix, 1997 ; Lee et Scholz, 2007 ; Mungasavalli et Viraraghavan, 2006 ; Vymazal, 2013).

| Type de fonction | Description de la fonction (Origine → Conséquence) | Localisation de la fonction |
|--|--|---|
| Hydrologique (et mécanique) | Croissance des racines et des tiges, balancement des roseaux → Limitation du colmatage physique par la création de macropores dans la couche de dépôts et de surface, et maintien de la perméabilité du système. | Parties aériennes et souterraines |
| Hydrologique (et physique) | Présence de roseaux → Réduction des vitesses d'écoulement et canalisation des flux d'eau, maintenant alors des conditions de sédimentation appropriées et limitant l'érosion de la surface du filtre. | Parties aériennes et souterraines |
| Hydrologique (et thermique) | Evapotranspiration par les plantes → Diminution des débits de sortie et limitation des îlots de chaleur urbains (devenant alors des îlots de fraîcheur urbain). | Parties aériennes |
| Support et stimulation des communautés microbiennes | Rhizosphère → Modification du pH et des échanges gazeux (O ₂ , CO ₂), libération d'enzymes et d'exsudats racinaires créant alors des microenvironnements autour des racines (effet rhizosphérique). | Parties souterraines |
| Source de matières organiques et nutriments | Sénescence des végétaux → Disponibilité dans le sol des éléments stockés dans la plante (racines et rhizomes, voir parties aériennes si aucun faucardage réalisé. | Parties aériennes et souterraines |
| Absorption (métabolisme) (flux mineur) | Métabolisme des roseaux → Absorption de nutriments et de polluants organiques et métalliques (rôle faible dans le cadre des roseaux) contenus dans les eaux. | Parties aériennes et souterraines |
| Adsorption | Sites d'adsorptions sur les racines → Augmentation de la rétention de polluants organiques et métalliques. | Parties souterraines |
| Perception | Présence de roseaux → Valorisation paysagère, aspect esthétique. | Parties aériennes |
| Habitat | Présence de roseaux → Habitat pour la faune locale : micro, méso et macrofaune (insectes et animaux). | Parties souterraines et aériennes |
| Régulateur thermique | Présence de roseaux → Interface isolante entre l'atmosphère et le sol en hiver et été, impactant le microclimat du filtre. | Parties aériennes vivantes et/ou mortes |

Annexe 1-8 : Synthèse bibliographique des phtalates (PAE) : biodégradation dans les sols.

La biodégradation est un processus important pour le devenir des phtalates (PAE) dans l'environnement. Dans les sols, c'est le processus majeur de dégradation des PAE (les processus abiotiques, tels que l'hydrolyse et la photolyse sont peu efficaces car les vitesses sont lentes, (Gao et Wen, 2016). La biodégradation a été largement étudiée ces dernières décennies (début des recherches dans les années 1960) et il a ainsi été démontré que de nombreux microorganismes pouvaient dégrader les phtalates et leur métabolites (Liang et al., 2008 ; Environnement Canada et Santé, Canada, 2015) mais également que la dégradation était possible dans diverses matrices environnementales : l'eau, les sols, les sédiments, différents types d'eaux usées ou encore les boues etc (Liang et al., 2008). Ainsi, les microorganismes jouent un rôle fondamental concernant la dégradation des phtalates dans l'environnement (Staples et al., 1997).

1. Voies de biodégradation des phtalates

La biodégradation des PAE est réalisée par une succession de réactions impliquant des bactéries. Les voies de biodégradation des PAE sont composées de deux grandes étapes : la biodégradation primaire des PAE en acide phtalique, et la biodégradation ultime des acides phtaliques en CO₂ (Liang et al., 2008). La première phase est commune aux bactéries aérobies et anaérobies.

Biodégradation primaire : AEROBIE ET ANAEROBIE

Cette première étape permet d'aboutir à de l'acide phtalique (dans des conditions aérobies ou anaérobies) (Figure 1). Pour cela, plusieurs voies sont possibles (Liang et al., 2008). La plus courante (dans les conditions aérobies et anaérobies) est la **désétherification ou désalkylation**, commune à la dégradation aérobie et anaérobie : cela consiste en l'hydrolyse des liaisons esters au niveau des chaînes alkyles des PAE, formant alors au fur et à mesure des phtalates à chaîne plus courte et aboutissant à un monoester et un alcool (MEP, monoéthyle phtalate) et finalement à de l'acide phtalique (PA).

Une autre voie possible est l'**oxydation** (non représentée sur la figure), elle concerne les PAE à chaînes plus longues que le DEP : ces PAE sont dégradés en PAE à chaîne plus courte par B-oxydation qui permet l'élimination d'un groupement éthyle à chaque fois. Une dernière voie alternative est la **transestérification (ou déméthylation)** : le DEP est dégradé en PAE à chaîne plus courte en remplaçant un groupe éthyle par un groupe méthyle à chaque étape, ce qui produit alors de l'éthyle-méthyle phtalate, DMP et MMP, ces deux derniers pourront finalement aboutir à du PA. (DEP peut être directement dégradé en PA également).

Biodégradation ultime : AEROBIE

L'acide phtalique est un intermédiaire important chez les composés aromatiques (comme les HAP) (Gao et Wen, 2016). Les voies de dégradation sont différentes entre aérobie et anaérobie.

En conditions aérobies (Liang et al., 2008), l'acide phtalique va dans un premier temps être dégradé à l'aide de la catalyse par dioxygénase de deux façons possibles, pour former du protocatechuate (3, 4-dihydroxy benzoate), un intermédiaire commun. En effet, selon les bactéries gram-positives et gram-négatives, l'acide phtalique ne va pas être biodégradé de la même façon pour former l'intermédiaire commun : Dans le cas de Gram-négatives, l'acide phtalique est dégradé en cis-3,4-dihydro-3,4-dihydroxyphtalate (catalysé par la dioxygénase), puis en 3,4-dihydroxyphtalate (oxydation par une déshydrogénase) avant d'aboutir au protocatechuate (par une décarboxylation grâce à la catalyse de décarboxylases). Pour les Gram-positives, l'acide phtalique est dégradé en cis-4,5-dihydro-4,5-dihydroxyphtalate, puis en 4,5-dihydroxyphtalate pour aboutir au protocatechuate (Figure 2).

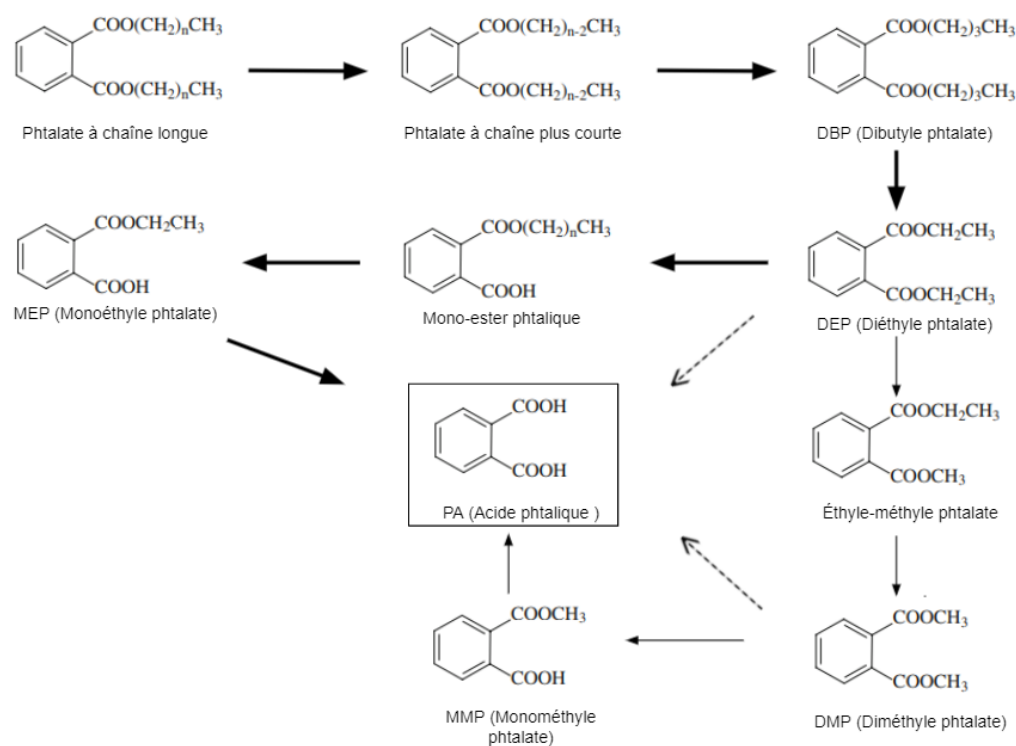


Figure 1 : Voies de dégradation primaire des phtalates (d'après le schéma de Liang et al., 2008). L'importance des voies est représentée par l'épaisseur et la continuité des flèches.

Enfin, le protocatechuate peut être métabolisé par voie d'ortho- ou de méta- clivage de son cycle aromatique par des enzymes de clivage de cycles afin d'obtenir des acides organiques. Cela permet la formation de pyruvate et oxaloacétate dans le cas d'un ortho-clivage et d'acétate et succinate dans le cadre d'un méta-clivage (Nomura et al., 1989). Ces produits peuvent finalement être totalement minéralisés en CO₂ et H₂O.

Biodégradation ultime : ANAÉROBIE

Cette voie de dégradation est moins bien connue que celle en aérobie. Une fois l'acide phtalique obtenu dans des conditions anaérobies, il va être biodégradé par clivage d'une autre façon que la voie aérobie (Liang et al., 2008).

Une voie possible est la décarboxylation du PA en benzoate (Liu et Chi, 2003). Ce dernier est ensuite clivé et dégradé par B-oxydation en acétate, hydrogène et dioxyde de carbone (Elder et Kelly, 1994). L'acétate pourra finalement être totalement minéralisé en méthane (Gao et Wen, 2016) (Figure 2). Le plus souvent, l'étape limitante en anaérobie est le passage du PA en benzoate (Liang et al., 2008 ; Kleerebezem, 1999).

Pour finir, il a été montré que les PAE avec des chaînes alkyles courtes (DMP, DEP, DPP, DBP ou BBP par exemple) peuvent être facilement biodégradés contrairement aux PAE à chaîne plus longue (DEHP, DHP, DOP) qui tendent à être moins sensibles à la biodégradation (Liang et al., 2008 ; Staples et al., 1997 ; Zhu et al., 2018). Ainsi, une augmentation du poids moléculaire ou de la longueur de la chaîne diminuera la biodégradabilité des PAE en raison d'une solubilité plus faible et d'un plus fort coefficient Kow, rendant ces molécules moins biodisponibles et plus réfractaires à la biodégradation (Zhu et al., 2018).

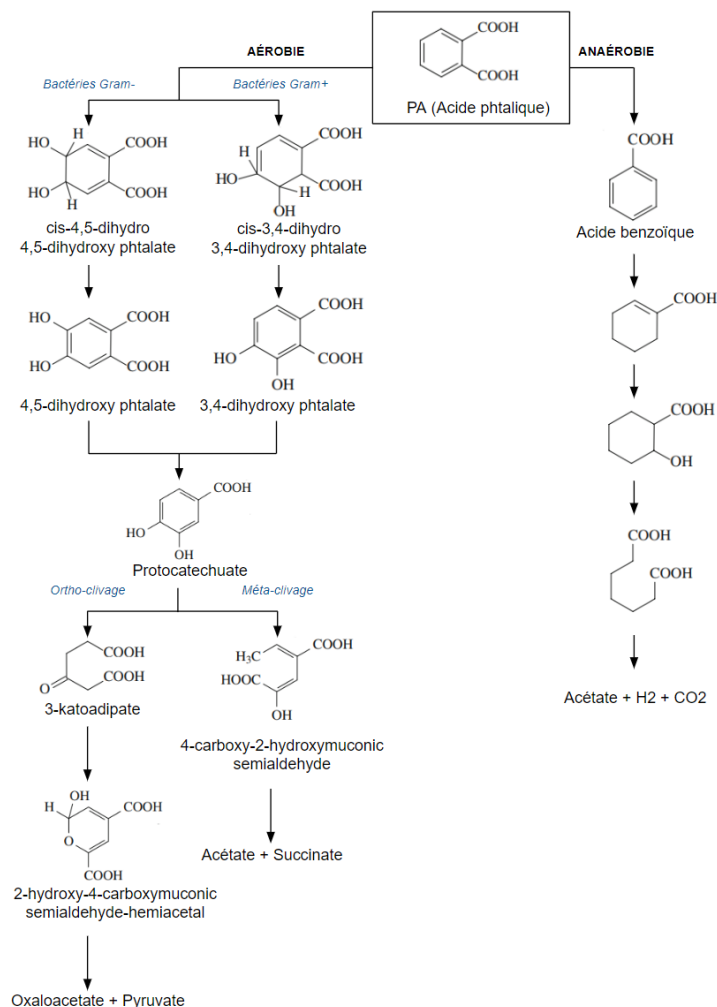


Figure 2 : Voies de dégradation ultime des phtalates selon les conditions aérobie et anaérobie (d'après le schéma de Liang et al., 2008).

2. Dégradation des phtalates dans les sols

La biodégradation des PAE se fait en plusieurs étapes et implique donc un ensemble de réactions, chacune nécessitant des gènes et enzymes spécifiques. C'est pourquoi, en milieu naturel, la dégradation des PAE est toujours réalisée de façon syntrophique (association microbienne au cours de laquelle chaque espèce produit un élément essentiel au développement de l'autre) avec des populations microbiennes mixtes, car un microorganisme seul est incapable de minéraliser totalement des PAE (Staples et al., 1997 ; Liang et al., 2008). Des bactéries sont spécialisées dans certaines étapes de la biodégradation, tandis que d'autre le sont à d'autres étapes. Des études ont ainsi montré que des PAE pouvaient être entièrement minéralisés par des consortiums microbiens, et à des vitesses plus élevées qu'en présence de souche pure (Jianlong et al., 2004 ; Gao et Wen, 2016 ; Xu et al., 2008 ; Wu et al., 2010). Dans les conditions anaérobies, la biodégradation a lieu à l'aide de consortiums méthanogènes (Chang et al., 2005). Cependant, il est montré que la dégradation anaérobie des PAE est bien plus lente que celle aérobie (Gao et Wen, 2016 ; Liang et al., 2008).

Le Tableau 1 résume les différentes références disponibles concernant la (bio)dégradation de phtalates (DEHP, DBP, DMP, DEP, DnOP) dans des sols. Les essais de dégradation consistent en des micro ou mésocosmes contenant du sol enrichi en PAE ou en ^{14}C -PAE (2 articles) (par ajout de boues ou solvants contaminés) dont les teneurs dans les sols sont suivies dans le temps. Des témoins stériles sont mis en place ou non, ce qui permet d'étudier la biodégradation ou à l'inverse, la dégradation. Cette dernière a surtout été étudiée dans des sols agricoles recevant ou non des boues contaminées issues de stations de traitement des eaux usées. Le DEHP et le DBP (ou DnBP) sont les phtalate les plus étudiés (présents chacun dans 7 et 5 études sur 11 respectivement), avec des teneurs expérimentales dans les sols au

laboratoire allant de 1.6 à 200 mg DEHP/kg (moyenne de 43 mg DEHP/kg) et entre 1 et 500 mg DBP/kg (moyenne de 69.3 mg/kg mais médiane de 20 mg/kg). Cependant, la majorité des études a utilisé des teneurs inférieures à 50mg/kg (7 études sur 11). Les temps d'incubation au laboratoire varient également, allant de 30 à 130 jours (moyenne de 61 jours). Ce tableau permet de se rendre compte de l'hétérogénéité des protocoles (teneurs, temps d'incubation etc) et des sols utilisés pour étudier la dégradation des PAE.

La majorité des études (6 sur 9) a utilisé une équation de cinétique de premier ordre pour modéliser la dégradation des PAE, comme pour le BPA et les AP. Cheng et al. (2018), Madsen et al. (1999) et Roslev et al. (1998) ont pourtant décrit la dégradation à l'aide d'un modèle biphasique car ce type de modèle décrivait mieux les données obtenues. Le choix du modèle est donc important.

Concernant la dégradation en général des PAE, Xu et al. (2008), Xie et al. (2010), Jianlong et al. (2004) et Cartwright et al. (2000) ont montré au travers de leurs études que le poids moléculaire augmentait le temps de demi-vie des PAE. En effet, la chaîne alkyle étant plus longue, cela rend la molécule plus longue à dégrader. De plus, le coefficient de partage Kow (adsorption aux particules du sol) dans les sols joue aussi un rôle puisque celui-ci augmente avec la masse molaire. Les PAE sont de plus en plus hydrophobes et peu solubles avec l'augmentation de la masse molaire donc l'adsorption sur les particules est élevée ce qui implique une accumulation dans les sols et sédiments pour les chaînes les plus longues. Les PAE à chaînes moyennes et longues sont donc prédominants dans les sols et sédiments car ils sont moins biodégradables que les chaînes plus courtes (car moins biodisponibles). Le DEHP est un des PAE le plus présent dans les sols car il s'accumule (Zhu et al., 2018 ; Madsen et al., 1999). En revanche, bien que l'adsorption soit souvent dominante, la biodégradation reste un processus important pour la dégradation des PAE.

En effet, pour tous les PAE, une biodégradation plus ou moins importante a été montrée au travers de ces publications. En comparant toutes les études n'ayant pas utilisé de ^{14}C -PAE pur suivre la dégradation entre elles, on retrouve également la relation entre la masse molaire, le Kow et le temps de demi-vie. En termes de masses molaires et de Kow (Tableau 1 de l'Annexe 1-4), **DMP < DEP < DBP (DnBP) < DEHP < DnOP** et les moyennes calculées des temps de demi-vie de toutes ces études sont respectivement de **8,53 ; 10,65 ; 9,5 ; 40,3 ; 64,1 jours** (Tableau 1) (Zhu et al., 2018 ; Wu et al., 2019 ; Cartwright et al., 2000 ; Xu et al., 2008 ; Tran et al., 2015 ; Zhou et al., 2005 ; Cheng et al., 2018 ; Jianlong et al., 2004 ; Xie et al., 2010). On remarque donc que le DMP, DEP et DBP (PAE à chaînes courtes) sont des molécules ayant une biodégradabilité beaucoup plus importante dans les sols que le DEHP et DnOP (PAE à chaînes longues). De plus, bien que le DnOP ait la même masse molaire que le DEHP, il possède un Kow légèrement plus élevé ce qui semble se répercuter sur le DT50 moyen). Ces valeurs de DT50 restent tout de même très éparses au sein d'une même molécule (différences dans les protocoles, populations microbiennes associées aux sols différentes). Les ordres de grandeur sont donc autour de 10 jours pour les PAE à chaînes courtes (DMP, DEP, DBP) et autour de 40-60 jours pour ceux à chaînes longues (DEHP, DnOP).

La concentration joue également un rôle sur la dégradation. Xie et al. (2010) ont montré une tendance à l'augmentation du temps de demi-vie avec les teneurs en PAE (une trop forte teneur inhibe l'activité microbienne). Cependant, ils ont aussi remarqué qu'à partir d'une certaine teneur en PAE, la croissance des microorganismes capables de dégrader les PAE peut être stimulée (temps de demi-vie plus faible à 10mg/kg qu'à 1mg/kg pour certains PAE) avant d'être inhibée par les trop fortes teneurs. En revanche, en comparant les différentes études entre elles, aucune tendance de l'augmentation du DT50 avec les teneurs ne s'observe. Les protocoles et sols étant très différents, il est difficile de comparer les études entre elles.

Aucune publication sur la répartition de PAE dans les sols à l'aide de radio marqueur (^{14}C -PAE) n'a été trouvée. Cependant, Madsen et al. (1999) et Roslev et al. (1998) ont utilisé du ^{14}C -DEHP afin de suivre uniquement sa cinétique de minéralisation (production de CO_2 donc minéralisation ultime du DEHP). Après 85 jours d'incubation, 40 % du ^{14}C -DEHP a été émis sous forme de CO_2 (Roslev et al., 1998) et après 120 jours, 50 % a été émis (Madsen et al., 1999). La minéralisation du DEHP est donc lente bien que possible, et peut être freinée par une adsorption très forte aux particules de sol.

Tableau 1 : Biodégradation aérobie des phtalates (PAE) dans les sols ou sédiments, plantés ou non selon 11 publications (Zhu et al., 2018 ; Wu et al., 2019 ; Cartwright et al., 2000 ; Xu et al., 2008 ; Tran et al., 2015 ; Zhou et al., 2005 ; Cheng et al., 2018 ; Jianlong et al., 2004 ; Xie et al., 2010 ; Madsen et al., 1999 ; Roslev et al., 1998). La méthodologie, les temps de demi-vie (DT50) et constantes de dégradation (k) obtenus sont fournis. (a) : non fourni dans l'article mais obtenu par le calcul à partir du DT50.

| | Site d'étude | Polluant étudié | Méthode | Teneurs T0 (mg/kg) | Temps incubation (j) | DT50 (j) | k (j-1) | Equation de cinétique utilisée | Référence |
|-----------|---|-----------------|---|----------------------------------|----------------------|---|---|--------------------------------|-------------------------|
| Sol + PAE | 12 sols agricoles de surface (pH de 5,0 à 8,7) | DEHP | Microcosmes (20 g) avec ajout d'un solvant contaminé Avec témoin stérile | 200 | 35 | 8,6 à 44 % du DEHP dégradé Biodégradation optimisée aux pH 6 à 8 | | Pas de cinétique réalisée | Zhu et al., 2018 |
| | Sol agricole de surface, 3 types de plantes | DEHP (+ pyrène) | Mésocosmes (5 kg) avec ajout d'un solvant contaminé, planté ou non (3 types) | 4,5-17,3-35 (0-20-50 en théorie) | 45 | 20 ppm : 65 à 76 % dégradé (planté) - 61 % (non planté) 50 ppm : 68 à 78 % dégradé (planté) - 52 % (non planté) | | Pas de cinétique réalisée | Wu et al., 2019 |
| | Sol sableux | DEHP et DEP | Microcosmes (2 g) avec ajout d'un solvant contaminé Avec témoins stériles | 100 | 70 | DEP : 0,75 DEHP : 40 | DEP : 0,924 (a) DEHP : 0,017 (a) | Non précisé (1er ordre) | Cartwright et al., 2000 |
| | 2 sols agricoles de surface | DEHP et DBP | Microcosmes avec ajout d'un solvant contaminé en un des 2 PAE Avec témoin stérile | 20 | 30 | DBP : 7,8-8,3 DEHP : 26,3-30,8 | DBP : 0,088-0,083 DEHP : 0,026-0,023 | 1er ordre | Xu et al., 2008 |
| | Sol agricole recevant des boues de STEP | DEHP | Expérience <i>in situ</i> : échantillons de surface prélevés à plusieurs temps après ajout unique de boues | 0,242 après épandage | 4 mois (122j) | 64 | 0,0108 | Non précisé (1er ordre) | Tran et al., 2015 |
| | Sable de surface et plus profond d'une ZHA construite pour l'expérience (2 m ²) | DBP | Microcosmes (5 g) de sable de surface et de profondeur avec ajout d'un solvant contaminé Avec témoin stérile | 500 | 30 | Surface : 1,4 Subsurface : 4,0 | Surface : 0,50 Subsurface : 0,17 | 1er ordre | Zhou et al., 2005 |
| | 2 sols agricoles différents | DBP | Mésocosmes (500 g sol) avec ajout d'un solvant contaminé, Conditions : 3 teneurs, 4 T°, avec ou sans lumière, 3 humidités Avec témoin stérile | 2-10-20 | 60 | 2-10-20 ppm : 0,872-0,459-0,338 j pour 1 sol et 0,946-0,983-1,20 j pour l'autre sol 5-15-25-35 °C : 1,41-0,754-0,338-0,286 j pour 1 sol et 4,60-2,79-1,20-0,870 j pour l'autre sol | | Modèle bi-exponentiel | Cheng et al., 2018 |

| | | | | | | | | | |
|---------------------------|---|-----------------------|--|------------------|-----|--|--|--|------------------------|
| | Sol d'un parc et boues de STEP | DMP, DEP, DBP et DnOP | Microcosmes (10 g) avec ajout d'un solvant contaminé en un des 4 PAE | 100 | 30 | 2,29 (DMP); 3,70 (DEP); 8,53 (DnBP); 28,4 (DnOP) | 0,3028 (DMP); 0,1871 (DEP); 0,0812 (DnBP); 0,0244 (DnOP) | 1er ordre | Jianlong, et al., 2004 |
| | Sol agricole | DMP, DEP, DBP et DnOP | Mésocosmes (colonnes de 1 kg) Avec témoin stérile | 1-10-30 | 40 | 1 ppm : 7,02 (DMP); 10,19 (DEP); 30,88 (DnBP); 61,14 (DnOP) 10 ppm : 9,13 ; 9,39 ; 19,58 ; 51,65 30 ppm : 15,68 ; 19,33 ; 31,21 ; 115,22 | 1 ppm : 0,427; 0,294; 0,097; 0,049 10 ppm : 0,328; 0,319; 0,153; 0,058 30 ppm : 0,191; 0,155; 0,096; 0,026 | 1er ordre | Xie et al., 2010 |
| Sol + ¹⁴ C-PAE | Sol agricole recevant des boues de STEP | DEHP | Microcosmes (20g) avec ajout de ¹⁴ C-DEHP, Conditions : 4 T°, 3 teneurs Avec témoin stérile | 1,6-3,2-9,9-35,1 | 130 | 1ère phase : 77 à 89 2ème phase : 100 à 127 | 1ère phase : 0,090 à 0,0078 | Cinétique biphasique : 1ère phase : cinétique 1er ordre 2ème phase : | Madsen et al., 1999 |
| | Sol agricole recevant des boues de STEP | DEHP | Microcosmes (20g) sol mélangé ou non avec boues contaminées au ¹⁴ C-DEHP | - | 85 | 1ère phase : 58 2ème phase : 147 | 1ère phase : 0,0119 (a) | equation empirique | Roslev et al., 1998 |

Le temps de demi-vie moyen associé à la minéralisation est de 77.8 jours (entre 58 et 89 jours). Il est donc plus élevé que les temps trouvés dans les études de dégradation ce qui est logique car ici, seul le PAE totalement transformé en CO₂ est mesuré, ainsi, seulement la biodégradation ultime est prise en compte pour le calcul.

Une publication a été trouvée concernant la dégradation du DBP dans un FPR-V (Zhou et al., 2005). Une expérience de dégradation a été menée avec du sable issu d'un FPR-V construit pour l'expérience (2m²). Bien que les teneurs en DBP étaient très élevées par rapport aux autres publications (500mg/kg), les microorganismes présents dans le sable ont pu biodégrader cette molécule en 30 jours : 95,7 % du DBP s'était dégradé dans le sable de surface et 64,2 % du DBP s'était dégradés dans le sable profond (pas de dégradation significative pour les témoins stériles donc dégradation liée aux microorganismes). La dégradation suit une équation du premier ordre et les temps de demi-vie en surface et profondeur sont de 1.4 et 4 jours respectivement. Ainsi, ils ont mis en évidence que les FPR sont capables de s'adapter à des apports en polluants et peuvent biodégrader le DBP, et que les activités enzymatiques et les taux de dégradation sont plus élevés en surface.

Enfin, concernant le rôle des plantes sur la dégradation des PAE, une publication a été trouvée (Wu et al., 2019). Ils ont révélé que la présence de plantes (agricoles) favorisait la biodégradation du DEHP : selon la végétation, 65 à 76 % du DEHP (20mg/kg) était dégradé contre 61 % pour les témoins sans plante après 45 jours, et 68 à 78 % du DEHP (50 mg/kg) était dégradé contre 52 % pour les témoins sans plante. La présence de plantes a permis d'augmenter la biomasse microbienne et de stimuler son activité et ainsi permis une meilleure dégradation. Ainsi, bien que les microorganismes soient des acteurs fondamentaux de la dégradation des PAE, la présence de végétation permet d'accentuer leur rôle.

3. Microorganismes participant à la biodégradation des phtalates

La biodégradation des PAE peut avoir lieu soit par des microorganismes aérobies ou soit par des anaérobies facultatifs, avec un faible nombre de microorganismes anaérobies isolés à ce jour (Chang et al., 2005 ; Liang et al., 2008).

Liang et al. (2008) ont recensés des cultures pures connues capables de dégrader les phtalates (aérobies et anaérobies). 55 espèces de bactéries aérobies issues de divers milieux (sédiments, sols, boues activées, bioréacteurs, eau de rivière, compost) et 8 espèces anaérobies sont répertoriées (eaux usées, sédiments). La majorité des bactéries sont issues de 4 embranchements : *Protéobactéries*, *Actinobactéries*, *Firmicutes* et *Bactéroïdes/Chlorobi*. Ce sont principalement des bactéries aérobies. Les genres de bactéries aérobies les plus courants sont *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Comamonas*, *Rhodococcus*, *Acinetobacter* et *Xanthomonas* (Liang et al., 2008 ; Gao et Wen, 2016 ; Cheng et al., 2018 ; Zhu et al., 2018 ; Wen et al., 2014). Moins étudiées, quelques bactéries anaérobies facultatifs ont été tout de même observées ; il s'agit de souches provenant des genres *Clostridium*, *Bacillus*, *Serratia* et *Enterobacter* (Liang et al., 2008 ; Gao et Wen, 2016 ; Chang et al., 2005).

Concernant les bactéries étudiées dans les sols, des Alphaproteobacteria (genre *Sphingomonas*), Deltaproteobacteria (*Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Xanthomonas*), Actinobacteria (*Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Aureobacterium*, *Gordonia*, *Brevibacterium*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus* (beaucoup d'espèces)), Firmicutes (*Bacillus*) et Bacteroidetes (*Flavobacterium*) sont capables de biodégrader des phtalates. Aucune bactérie anaérobie n'a été étudiée dans des sols.

Quelques genres de champignon (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Sclerotium*, *Fusarium*, *Polyporus*, *Phanerochaete*, *Trametes*, et *Daldinia* par exemple) (Liang et al., 2008 ; Cheng et al., 2018) et de microalgues vertes (*Closterium lunula* et *Chlorella pyrenoidosa*) sont également capables de dégrader les PAE (Liang et al., 2008 ; Environnement Canada et Santé, Canada, 2015).

PARTIE 2 :

Annexe 2-1 : Localisation du site d'étude : la portion du périphérique capté est située entre les deux portes (points orange) et correspond au tracé bleu. L'ouvrage est représenté par une étoile bleue. Source : Marie de Paris.



Annexe 2-2 : Informations hydrauliques relevées le jour de chaque campagne de prélèvement.

- (1) Volume d'eau ayant circulé dans chaque demi-filtre depuis le début du suivi (le 01/05/2021, soit 74 jours après le début de l'alimentation en EP du filtre, le 16/02/2021).
- (2) Proportion d'eaux par temps sec ayant circulé dans chaque filtre ((volume par temps sec/volume total)*100) par rapport au volume total ou au volume sur le mois prioritaire.
- (3) Volume d'eau ayant circulé dans chaque demi-filtre le mois précédant le prélèvement (prélèvement pendant le ressuyage du demi-filtre)
- (4) Temps écoulé entre la fin de l'alimentation en eau du demi-filtre et la campagne de prélèvement

| CAMPAGNE T1 2021 | 07-oct | 21-sept |
|---|---------------|----------------|
| | FS | FR |
| Volume d'eau écoulé depuis le début du suivi (m ³) (1) | 30 480 | 29 130 |
| <i>Pourcentage d'eaux par temps sec (eaux claires) (%) (2)</i> | 49 | 56 |
| Volume d'eau passé sur le mois prioritaire (m ³) (3) | 8 000 | 10 230 |
| <i>Pourcentage d'eaux par temps sec (eaux claires) (%) (2)</i> | 83 | 64 |
| Temps de ressuyage du filtre avant prélèvement (j) (4) | 13 | 22 |
| CAMPAGNE T2 2022 | 27-oct | 27-sept |
| | FS | FR |
| Volume d'eau écoulé depuis le début du suivi (m ³) | 127 450 | 143 240 |
| <i>Pourcentage d'eaux par temps sec (eaux claires) (%)</i> | 55 | 66 |
| Volume d'eau passé sur le mois prioritaire (m ³) | 9 340 | 9 200 |
| <i>Pourcentage d'eaux par temps sec (eaux claires) (%)</i> | 79 | 72 |
| Temps de ressuyage du filtre avant prélèvement (j) | 4 | 3 |
| Cartographie sédiment "T2" 2023 | 05-avr | 05-avr |
| | FS | FR |
| Volume d'eau écoulé depuis le début du suivi (m ³) | 155 720 | 172 990 |
| <i>Pourcentage d'eaux par temps sec (eaux claires) (%)</i> | 61 | 68 |
| Volume d'eau passé sur le mois prioritaire (m ³) | 5 950 | 7 220 |
| <i>Pourcentage d'eaux par temps sec (eaux claires) (%)</i> | 100 | 100 |
| Temps de ressuyage du filtre avant prélèvement (j) | en eau | 20 |

Annexe 2-3 : Informations météorologiques relevées le jour de chaque campagne et des 6 jours les précédents. La station météorologique la plus proche et dont les données sont issues est la station Paris Montsouris.

| CAMPAGNE T0 2020 | | | | | | | |
|-------------------------|-------------|-------------|------------|----------------|-------------|-------------|------------|
| 01-sept | FS | | | 01-sept | FR | | |
| | T° max | T° min | P (mm) | | T° max | T° min | P (mm) |
| 01-sept | 20,5 | 12,3 | 0,6 | 01-sept | 20,5 | 12,3 | 0,6 |
| 31-août | 20,5 | 13,4 | 0 | 31-août | 20,5 | 13,4 | 0 |
| 30-août | 21,6 | 13,1 | 0,6 | 30-août | 21,6 | 13,1 | 0,6 |
| 29-août | 18,2 | 12,3 | 1,8 | 29-août | 18,2 | 12,3 | 1,8 |
| 28-août | 22,5 | 15,1 | 1,2 | 28-août | 22,5 | 15,1 | 1,2 |
| 27-août | 26,6 | 14,3 | 0,4 | 27-août | 26,6 | 14,3 | 0,4 |
| 26-août | 24,3 | 16,2 | 0 | 26-août | 24,3 | 16,2 | 0 |
| Moyenne | 22,0 | 13,8 | 0,7 | Moyenne | 22,0 | 13,8 | 0,7 |

| CAMPAGNE T1 2021 | | | | | | | |
|-------------------------|-------------|-------------|------------|----------------|-------------|-------------|------------|
| 07-oct | FS | | | 21-sept | FR | | |
| | T° max | T° min | P (mm) | | T° max | T° min | P (mm) |
| 07-oct | 30 | 17,2 | 0 | 21-sept | 18,9 | 11,6 | 0 |
| 06-oct | 30 | 17,8 | 0 | 20-sept | 20,5 | 13,6 | 0,2 |
| 05-oct | 30,3 | 18,3 | 0,8 | 19-sept | 22,7 | 15,5 | 12,3 |
| 04-oct | 28,4 | 18,8 | 1 | 18-sept | 24,6 | 14,8 | 0 |
| 03-oct | 28,6 | 14,2 | 0 | 17-sept | 24,1 | 13,3 | 0 |
| 02-oct | 25,7 | 12,2 | 0 | 16-sept | 22,9 | 15,6 | 0,2 |
| 01-oct | 23,5 | 14,7 | 0 | 15-sept | 21,3 | 19 | 12,4 |
| Moyenne | 28,1 | 16,2 | 0,3 | Moyenne | 22,1 | 14,8 | 3,6 |

| CAMPAGNE T2 2022 | | | | | | | |
|-------------------------|-------------|-------------|------------|----------------|-------------|-------------|------------|
| 27-oct | FS | | | 27-sept | FR | | |
| | T° max | T° min | P (mm) | | T° max | T° min | P (mm) |
| 27-oct | 23,1 | 13,5 | 0 | 27-sept | 14,2 | 10,7 | 4,4 |
| 26-oct | 22,4 | 13,8 | 0,2 | 26-sept | 15 | 11,8 | 8,7 |
| 25-oct | 18,6 | 13,1 | 0,2 | 25-sept | 20 | 11,9 | 0,2 |
| 24-oct | 18,6 | 14,8 | 0 | 24-sept | 17,6 | 13,2 | 3 |
| 23-oct | 23,3 | 15 | 0 | 23-sept | 21 | 10,9 | 0,4 |
| 22-oct | 21,9 | 13,2 | 0,4 | 22-sept | 21 | 9,7 | 0 |
| 21-oct | 21,1 | 14,2 | 3,4 | 21-sept | 19,8 | 10 | 0 |
| Moyenne | 21,3 | 13,9 | 0,6 | Moyenne | 18,4 | 11,2 | 2,4 |

Annexe 2-4 : Nombre total d'échantillons composites récupérés lors des trois campagnes T0, T1 et T2 et nomenclature associée selon leurs localisations horizontales (zone) et verticales (profondeur). Le nom de chaque échantillon est donné avec l'information de la campagne. Les cellules ayant la même couleur correspondent à un même échantillon. Am : amont ; C : centre ; Av : aval ; Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond.

| Filtre | Zone du filtre | Profondeur (cm) | Substrat | T0 | T1 | T2 | |
|-----------------------------------|-----------------------------|-----------------|------------------|------------------|--------------|--------------|--------------|
| Filtre conventionnel : FS | Amont | +x - 0 | Sédiment | - | FS-Sdt-Am-T1 | FS-Sdt-Am-T2 | |
| | | 0-10 | Sable de surface | FS-Ss-Am-T0 | FS-Ss-Am-T2 | FS-Ss-Am-T2 | |
| | | 10-40 | Sable profond | FS-Sp-Am-T0 | FS-Sp-Am-T2 | FS-Sp-Am-T2 | |
| | Centre | 0-10 | Sable de surface | FS-Ss-C-T0 | FS-Ss-C-T2 | FS-Ss-C-T2 | |
| | | 10-40 | Sable profond | FS-Sp-C-T0 | FS-Sp-C-T2 | FS-Sp-C-T2 | |
| | Aval | 0-10 | Sable de surface | FS-Ss-Av-T0 | FS-Ss-Av-T2 | FS-Ss-Av-T2 | |
| | | 10-40 | Sable profond | FS-Sp-Av-T0 | FS-Sp-Av-T2 | FS-Sp-Av-T2 | |
| | Filtre innovant : FR | Amont | +x - 0 | Sédiment | - | FR-Sdt-Am-T1 | FR-Sdt-Am-T2 |
| | | | 0-10 | Sable de surface | FR-Ss-Am-T0 | FR-Ss-Am-T2 | FR-Ss-Am-T2 |
| | | | 10-30 | Rainclean | FR-Rc-Am-T0 | FR-Rc-Am-T1 | FR-Rc-Am-T2 |
| 30-40 | | | Sable profond | FR-Sp-Am-T0 | FR-Sp-Am-T2 | FR-Sp-Am-T2 | |
| Centre | | 0-10 | Sable de surface | FR-Ss-C-T0 | FR-Ss-C-T2 | FR-Ss-C-T2 | |
| | | 10-30 | Rainclean | FR-Rc-C-T0 | FR-Rc-C-T1 | FR-Rc-C-T2 | |
| | | 30-40 | Sable profond | FR-Sp-C-T0 | FR-Sp-C-T2 | FR-Sp-C-T2 | |
| Aval | | 0-10 | Sable de surface | FR-Ss-Av-T0 | FR-Ss-Av-T2 | FR-Ss-Av-T2 | |
| | | 10-30 | Rainclean | FR-Rc-Av-T0 | FR-Rc-Av-T1 | FR-Rc-Av-T2 | |
| | | 30-40 | Sable profond | FR-Sp-Av-T0 | FR-Sp-Av-T2 | FR-Sp-Av-T2 | |
| Nombre total d'échantillon | | | | 10 | 16 | 17 | |

Annexe 2-5 : Etude du développement des *P. australis* dans le filtre lors des campagnes T0 et T1. Les prélèvements, la préparation et les mesures réalisées sont décrits.

1- Prélèvements de *P. australis* :

Afin d'évaluer le développement des roseaux dans le FPR et leur évolution, plusieurs prélèvements ont été réalisés et des informations ont été relevés (Figure 1).

Le protocole a été mis en place lors de la **campagne T0**. Dans un premier temps, des quadrats de 1 m² ont été définis sur chaque filtre, 2 ou 3 dans la zone amont, et 5 dans les zones centre et aval (dans des zones homogènes et représentatives), ce qui fait un total de 12 et 13 quadrats dans les filtres FS et FR respectivement, soit **25 surfaces de 1 m²** (Figure 1A). Sur ces quadrats, le **nombre** de tiges et la **hauteur** maximale ont été relevés. Dans un second temps, une motte de roseaux en aval de chaque FPR a été prélevée (partie aérienne et souterraine avec le substrat) sous forme d'un cube de 20 cm de diamètre et 10 cm de profondeur environ à l'aide d'une bêche (Figures 1B et 1C). Ces deux plantes ont ensuite été ramenées au laboratoire pour une étude plus approfondie du végétal et la mise en place du protocole d'étude pour la prochaine campagne de prélèvements.

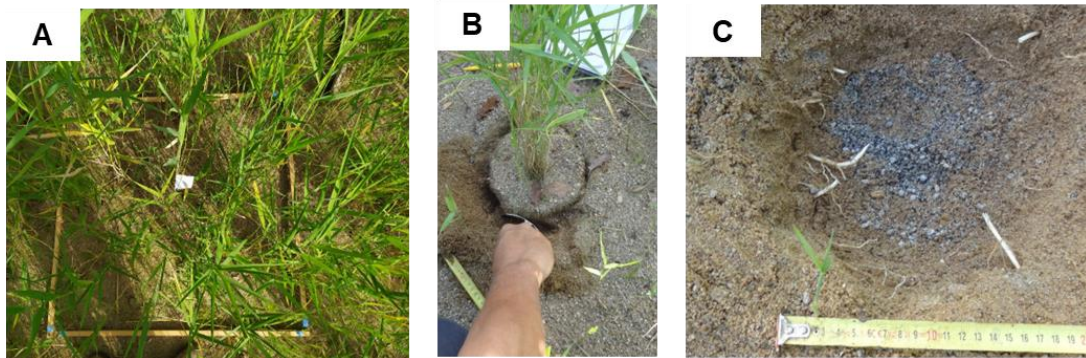


Figure 1 : Photographies des étapes de prélèvement des *P. australis* au T0. A : quadrat d'un m². B : prélèvement d'une plante dans sa totalité (aérien + souterrain). C : trou résultant du prélèvement, avec le Rainclean affleurant.

Au cours de la **campagne T1**, 9 quadrats de 1 m² ont été définis dans chaque filtre, 3 par zone (en prenant des zones homogènes et représentatives). La **hauteur** maximale des roseaux dans chaque quadrat était mesurée uniquement. Le quadrat était ensuite divisé en quart et les tiges et les feuilles présentes dans chaque 3 quarts de chaque quadrat de 1 m² étaient coupées à ras à l'aide de ciseaux en inox et couteau en céramique (Figure 2A à 2B) et mises en sac pour être traitées au laboratoire. Puis, la partie aérienne du quart restant a été coupée et récolté séparément. A l'aide d'une bêche, un trou d'environ 20 cm de profondeur et 25*25 cm de côté était ensuite réalisé sous cette petite surface afin de récupérer le système racinaire des *Phragmites* (Figure 2C à F). Les dimensions exactes du volume récupéré étaient mesurées. 3 sacs étaient donc récupérés par quadrats, un sac avec la partie aérienne des plantes récupérés sur une surface de 25*25, le système racinaire récupéré sous cette même surface, et un sac contenant tout le reste de la partie aérienne des plantes sur le quadrat de 1 m². Ils ont ensuite été ramenés au laboratoire pour leur étude.

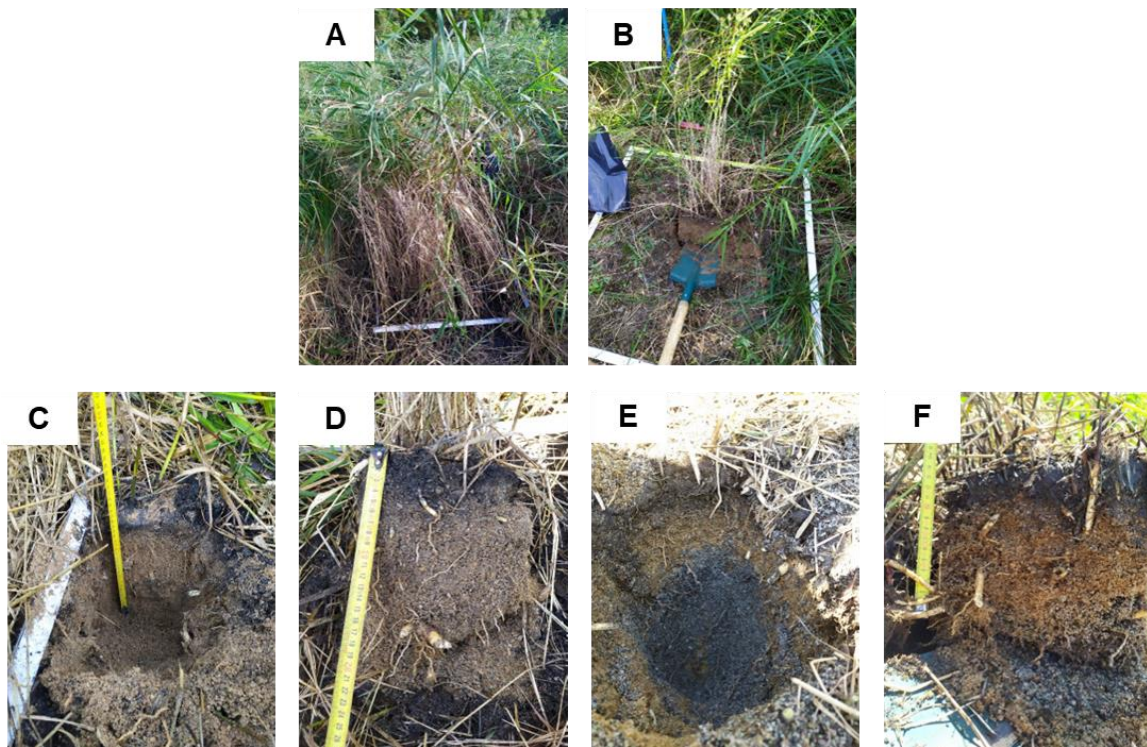


Figure 2 : Photographies des étapes de prélèvement des *P. australis* au T1. A : quadrat avant les prélèvements ; B : quadrat après le prélèvement des parties aériennes des 3 quarts ; C : trou résultant du prélèvement pour le filtre FS. D : système racinaire des *P. australis* dans le filtre FS. E : trou résultant du prélèvement pour le filtre FR. F : système racinaire dans le filtre Fr.

Ces différents prélèvements et quadrats ont été géoréférencés, la Figure 3 représente leur position sur le filtre.

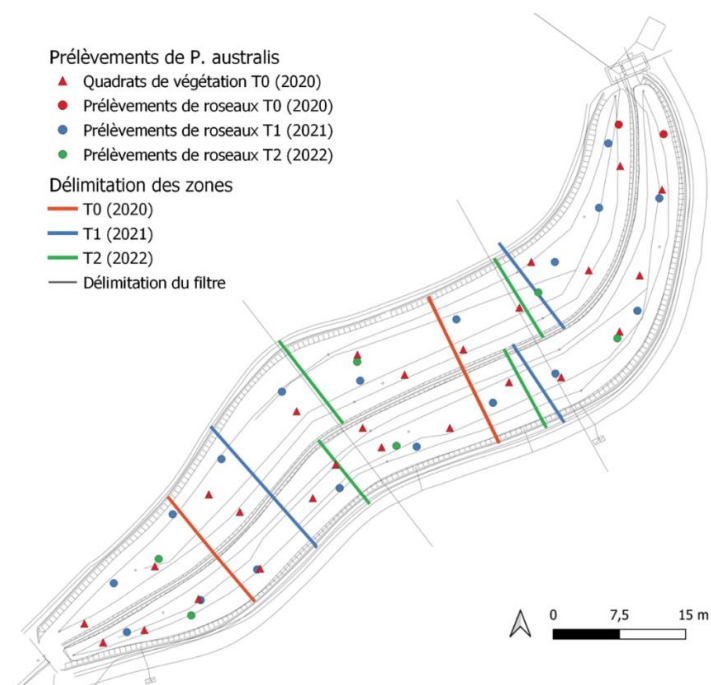


Figure 3 : Carte des quadrats et prélèvements de *P. australis* réalisés au cours des trois campagnes de prélèvement T0, T1 et T2.

- Préparation de *P. australis* :

Pour la campagne T0 et T1, **2 mottes** et **18 mottes** (issues des quadrats) respectivement ont été prélevées dans leur **totalité** (aérien + souterrain) et ramenées au laboratoire. Le protocole était similaire entre les deux campagnes, les différentes étapes de préparation des *P. australis* sont représentées sur la Figure 4. Dans un premier temps, chaque motte de roseaux (= un échantillon) est secouée pour retirer le sable non adhérent aux racines (Figure 4A), puis nettoyée à l'eau du robinet puis à l'eau distillée pour retirer le substrat adhérent aux racines (Figure 4B). La totalité du substrat accroché aux végétaux est retirée (jusqu'à ce que l'eau utilisée soit claire). Quelques paramètres physiologiques des parties aériennes sont alors relevés (détaillés dans le prochain paragraphe). Puis, les parties aériennes et souterraines sont séparées en les coupant à l'aide de ciseaux en inox au plus près de la surface du sol (Figure 4C).



Figure 4 : Photographie de la préparation des *P. australis* (parties aériennes et souterraines). C : motte de roseaux et retrait du substrat dans les racines en les secouant. E : retrait du substrat adhérent aux racines en les rinçant et lavant. F : séparation des parties aériennes des souterraines. G : les différentes parties des roseaux après séparation et séchage, de gauche à droite : rhizomes, racines, tiges, feuilles et litière.

Dans un second temps, une subdivision est réalisée dans les deux parties de chaque roseau : **tiges** et **feuilles** sont séparées pour la partie aérienne, et **racines** et **rhizomes** sont séparés pour la partie souterraine. Les feuilles sont retirées délicatement des tiges, les tiges coupées sont rincées une nouvelle fois à l'eau distillée, les racines sont coupées des rhizomes à ras et tous deux sont rincés également une nouvelle fois. La litière (roseaux morts et autres débris organiques) est conservée à part. Chaque partie séparée est ensuite coupée en petit morceaux et placée dans différents sacs plastiques de 1 L (Figure 4D). Les masses humides sont mesurées, et les différentes parties des roseaux sont mises à sécher dans une étuve ventilée à 40°C (*Etuve FD 115, Binder*) jusqu'à masse constante (entre 3 à 7 jours selon les parties du roseau). Les échantillons sont ensuite conservés dans leurs sachets plastiques fermés.

Lors de la campagne T0, les **parties aériennes** ont pu être étudiées sur places, mais ce n'était plus possible au T1 car la biomasse était très importante. Les parties aériennes des quadrats ont donc été ramenées au laboratoire (Figure 5A). Le nombre de tiges de chaque quadrat a été compté, et la litière était ensuite séparée du reste (Figure 5B). Puis ces deux parties étaient pesées et mises à sécher à température ambiante jusqu'à masse sèche (environ 3 mois).



Figure 5 : Photographie de la préparation des parties aériennes des *P. australis*. A : les différents quadrats récupérés ; B : comptage du nombre de tige d'un quadrat et séparation des parties aériennes de la litière.

3. Etude de *P. australis* :

Sur les quadrats du **site d'étude**, la hauteur maximale des tiges était mesurée pour T0 et T1 et le nombre de tige était compté pour T0 dans chaque quadrat défini.

Puis, concernant les **parties aériennes** des 3 quarts de quadrat prélevés au T1 (18 quadrats), le nombre de tige était compté, puis les parties aériennes après séchage étaient pesées afin de connaître la biomasse aérienne par m² (g/m²).

Concernant les 2 et 18 mottes de **roseaux entiers** prélevées au T0 et T1, le nombre de tiges, leurs hauteurs et diamètres à leur base étaient mesurés. Après séparation en 4 parties et séchage, les masses étaient pesées afin de connaître la biomasse de chaque partie du roseau (g). La biomasse et la contribution de chaque partie est ainsi connue et peut être comparée dans l'espace.

Annexe 2-6 : Photographie des différents contenants selon les analyses réalisées. A : analyses microbiologiques et biochimiques (échantillons composites à gauche, uniques à droite). B : analyses sous-traitées des propriétés physico-chimiques (sachets plastique) et du dosage des HAP/indices HC (flacons verre). C : Analyses des ETM. D : analyses des AP/BPA/PAE.



Annexe 2-7 : Préparation de la gamme d'étalonnage pour l'analyse des AP/BPA.

-Préparation des solutions mères des AP/BPA (composés).

| Préparation des solutions mères | | | | | | | | |
|--|------------|--------------|------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|
| Volumes solution mères préparés (mL) | 10 | | | | | | | |
| Volume S0 pour avoir solution S1 (mL) | 0,25 | | | | | | | |
| Volume S1 pour avoir solution S2 (mL) | 0,25 | | | | | | | |
| Composés cibles | BPA | NP1EC | OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2EO | NP1EO |
| Concentration Solutions mères (mg/L) | 2251 | 10 | 2021 | 10 | 10 | 2552 | 1000 | 1500 |
| Concentration S0 (mg/L) | 22,51 | | 20,21 | | | 25,52 | 10 | 15 |
| Concentration S1 (mg/L) | 0,56275 | 0,4 | 0,50525 | 0,4 | 0,4 | 0,638 | 0,25 | 0,375 |
| Concentration S2 (mg/L) | 0,01406875 | 0,01 | 0,01263125 | 0,01 | 0,01 | 0,01595 | 0,00625 | 0,009375 |

-Préparation des solutions mères des AP/BPA (étalons). Note : les mêmes solutions sont utilisées pour doper les échantillons en étalon d'injection et d'extraction.

| Étalon d'injection | BPA-d16 | n-NP | n-NP1EO | n-NP2EC |
|--|----------------|-----------------|-----------------|----------------|
| Concentration solutions mères (1 par composé) (mg/L) | 537 | 232 | 100 | 100 |
| Concentration solution mère (composés mélangés) (mg/L) | 1,074 | 0,464 | 1 | 1 |
| Étalon d'extraction | BPA-d6 | n-OP-d17 | NP1EO-d2 | |
| Concentration solutions mères (1 par composé) (mg/L) | 580 | 1365 | 1 | |
| Concentration solution mère (composés mélangés) (mg/L) | 11,6 | 13,65 | 0,08 | |
| Concentration solution fille (SF) pour la gamme (mg/L) | 0,58 | 0,6825 | 0,104 | |

- Volumes des différents constituants de la gamme d'étalonnage des alkylphénols et bisphénol-A (volume total de 1 mL).

| Point de gamme | Nom solution mère (SM) | Volume SM (µl) | Volume étalon injection (µl) | Volume étalon extraction (µL) | Volume Phase mobile (µl) |
|-----------------------|-------------------------------|-----------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|
| 1 | S2 | 0 | 50 | 0 | 950 |
| 2 | S2 | 25 | 50 | 0 | 925 |
| 3 | S2 | 50 | 50 | 0 | 900 |
| 4 | S2 | 75 | 50 | 0 | 875 |
| 5 | S2 | 100 | 50 | 5 | 845 |
| 6 | S2 | 250 | 50 | 10 | 690 |
| 7 | S2 | 500 | 50 | 25 | 425 |
| 8 | S1 | 25 | 50 | 40 | 885 |
| 9 | S1 | 50 | 50 | 50 | 850 |

| | | | | | |
|----|----|-----|----|-----|-----|
| 10 | S1 | 100 | 50 | 75 | 775 |
| 11 | S1 | 250 | 50 | 100 | 600 |
| 12 | S1 | 500 | 50 | 0 | 450 |

-Concentration des différents composés selon les points de gamme

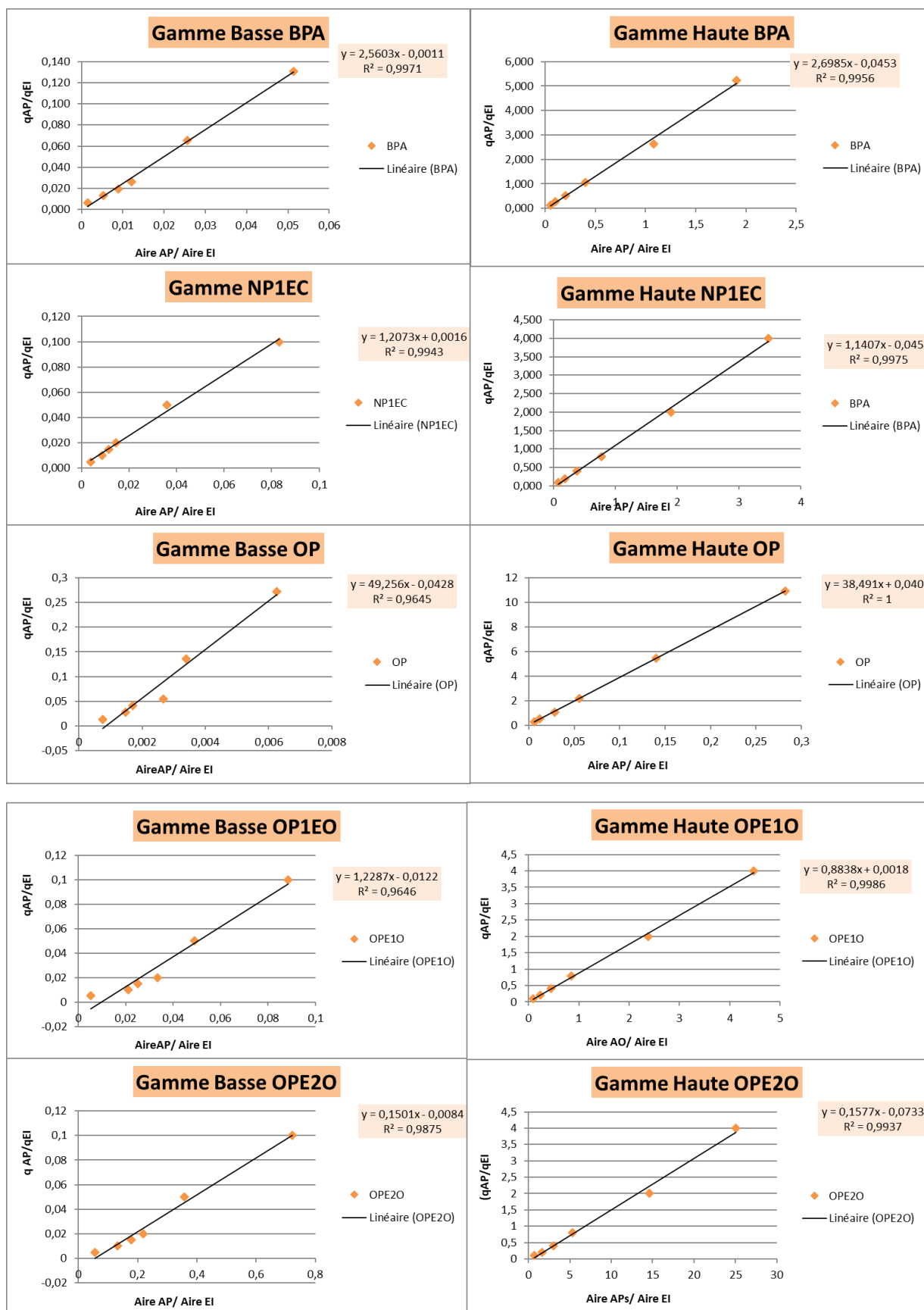
| Point de gamme | SM utilisée | CONCENTRATION (µg/L) | | | | | | | |
|----------------|-------------|----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | BPA | NP1EC | OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2EO | NP1EO |
| 1 | S2 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 2 | S2 | 0,35 | 0,25 | 0,32 | 0,25 | 0,25 | 0,40 | 0,16 | 0,23 |
| 3 | S2 | 0,70 | 0,50 | 0,63 | 0,50 | 0,50 | 0,80 | 0,31 | 0,47 |
| 4 | S2 | 1,06 | 0,75 | 0,95 | 0,75 | 0,75 | 1,20 | 0,47 | 0,70 |
| 5 | S2 | 1,41 | 1,00 | 1,26 | 1,00 | 1,00 | 1,60 | 0,63 | 0,94 |
| 6 | S2 | 3,52 | 2,50 | 3,16 | 2,50 | 2,50 | 3,99 | 1,56 | 2,34 |
| 7 | S2 | 7,03 | 5,00 | 6,32 | 5,00 | 5,00 | 7,98 | 3,13 | 4,69 |
| 8 | S1 | 14,07 | 10,00 | 12,63 | 10,00 | 10,00 | 15,95 | 6,25 | 9,38 |
| 9 | S1 | 28,14 | 20,00 | 25,26 | 20,00 | 20,00 | 31,90 | 12,50 | 18,75 |
| 10 | S1 | 56,28 | 40,00 | 50,53 | 40,00 | 40,00 | 63,80 | 25,00 | 37,50 |
| 11 | S1 | 140,69 | 100,00 | 126,31 | 100,00 | 100,00 | 159,50 | 62,50 | 93,75 |
| 12 | S1 | 281,38 | 200,00 | 252,63 | 200,00 | 200,00 | 319,00 | 125,00 | 187,50 |

-Concentration des étalons d'injection et extraction selon les points de gamme

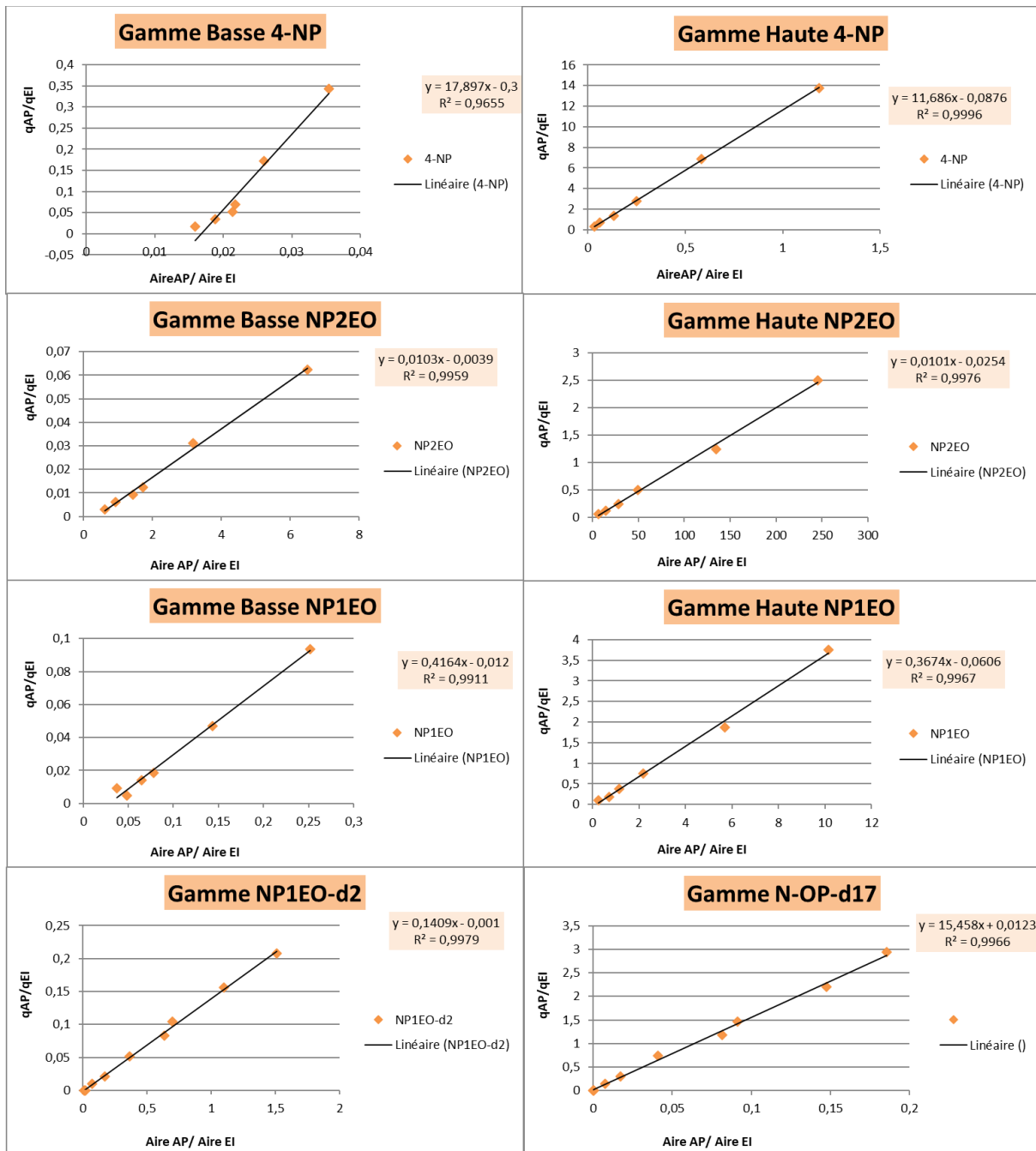
| Point de gamme | Volume SF (µL) | CONCENTRATION (µg/L) étalon d'extraction | | |
|----------------|----------------|--|----------|----------|
| | | BPA-d6 | n-OP-d17 | NP1EO-d2 |
| 1 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 2 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 3 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 4 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 5 | 5 | 2,90 | 3,41 | 0,52 |
| 6 | 10 | 5,80 | 6,83 | 1,04 |
| 7 | 25 | 14,50 | 17,06 | 2,60 |
| 8 | 40 | 23,20 | 27,30 | 4,16 |
| 9 | 50 | 29,00 | 34,13 | 5,20 |
| 10 | 75 | 43,50 | 51,19 | 7,80 |
| 11 | 100 | 58,00 | 68,25 | 10,40 |
| 12 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

| Etalon d'injection | BPA-d16 | n-NP | n-NP1EO | n-NP2EC |
|---|---------|--------|---------|---------|
| Concentration dans chaque point de gamme (µg/L) | 0,0537 | 0,0232 | 0,05 | 0,05 |

Annexe 2-8 : Résultats des gammes d'étalonnage basses et hautes de chaque composé analysé (AP et BPA).



Annexe 2-8 (suite)



Annexe 2-9 :

A : Résultats de la répétabilité des mesures des alkylphénols et Bisphénol A selon les 3 substrats. Les valeurs ainsi que leur moyennes et coefficients de variations sont présentées. Les valeurs en rouge sont celles inférieures à la limite de quantification.

| | Teneurs (µg/g sec) | | | | | | | |
|------------------|--------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | BPA | NP1EC | OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2EO | NP1EO |
| Sédiment | 0,2558 | 0,0006 | 0,0955 | 0,0155 | 0,0272 | 1,0686 | 0,0236 | 0,0172 |
| | 0,2144 | 0,0004 | 0,1039 | 0,0252 | 0,0312 | 1,2558 | 0,0267 | 0,0146 |
| | 0,2281 | 0,0008 | 0,0815 | 0,0129 | 0,0206 | 0,8570 | 0,0222 | 0,0167 |
| | 0,3148 | 0,0006 | 0,1067 | 0,0212 | 0,0229 | 1,2595 | 0,0275 | 0,0174 |
| | 0,2097 | 0,0005 | 0,1208 | 0,0229 | 0,0292 | 0,8647 | 0,0133 | 0,0192 |
| MOY | 0,2446 | 0,0006 | 0,1017 | 0,0195 | 0,0262 | 1,0611 | 0,0227 | 0,0170 |
| CV (%) | 17,6 | 26,5 | 14,3 | 26,4 | 16,8 | 18,7 | 24,9 | 9,7 |
| Sable | 0,0174 | 0,00015 | 0,0040 | 0,0002 | 0,0033 | 0,1109 | 0,0034 | 0,0020 |
| | 0,0189 | 0,00015 | 0,0028 | 0,0002 | 0,0032 | 0,0803 | 0,0036 | 0,0012 |
| | 0,0175 | 0,00018 | 0,0044 | 0,0004 | 0,0040 | 0,1028 | 0,0031 | 0,0013 |
| | 0,0192 | 0,00016 | 0,0044 | 0,0004 | 0,0025 | 0,0812 | 0,0028 | 0,0025 |
| | 0,0178 | 0,00023 | 0,0035 | 0,0005 | 0,0038 | 0,1059 | 0,0040 | 0,0019 |
| MOY | 0,0182 | 0,0002 | 0,0038 | 0,0003 | 0,0034 | 0,0962 | 0,0034 | 0,0018 |
| CV (%) | 4,7 | 18,8 | 18,5 | 33,8 | 17,6 | 15,0 | 13,7 | 29,7 |
| Rainclean | 0,0050 | 0,0003 | 0,0025 | 0,0002 | 0,0020 | 0,0229 | 0,0034 | 0,0021 |
| | 0,0050 | 0,0002 | 0,0017 | 0,0002 | 0,0021 | 0,0247 | 0,0025 | 0,0036 |
| | 0,0039 | 0,0001 | 0,0024 | 0,0000 | 0,0016 | 0,0220 | 0,0022 | 0,0022 |
| | 0,0048 | 0,0002 | 0,0019 | 0,0001 | 0,0016 | 0,0224 | 0,0029 | 0,0032 |
| | 0,0040 | 0,0002 | 0,0022 | | | 0,0244 | 0,0029 | 0,0026 |
| MOY | 0,0046 | 0,0002 | 0,0021 | 0,0001 | 0,0018 | 0,0233 | 0,0028 | 0,0027 |
| CV (%) | 12,2 | 26,5 | 15,4 | 73,9 | 12,9 | 5,2 | 16,2 | 23,6 |
| LQ | 0,0019 | 0,0017 | 0,0014 | 0,0007 | 0,001 | 0,0016 | 0,0014 | 0,0016 |

B : Rendements d'extraction moyens obtenus à l'issus des analyses des MPO émergents lors des campagnes T0, T1 et T2 pour chaque substrat.

| | BPA-d6 | NP1EO-d2 | n-OP-d17 |
|--------|--------|----------|----------|
| Sdt-T1 | 49,3 | 135,2 | 132,7 |
| Sdt-T2 | 83,4 | 48,8 | 139,3 |
| S-T0 | 76,8 | 80,5 | 82,4 |
| S-T1 | 70 | 77,4 | 84,2 |
| S-T2 | 79,6 | 83 | 94,1 |
| Rc-T0 | 77 | 89 | 82 |
| Rc-T1 | 65,5 | 65,6 | 61,7 |
| Rc-T2 | 93,9 | 22,3 | 91,6 |

Annexe 2-10 : Préparation de la gamme de TPF (10 points) pour le dosage de la déshydrogénase.

| Tube | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|----|-------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|
| MeOH (mL) | 10 | 9 | 9 | 9 | 8 | 9 | 8,5 | 8 | 7,5 | 0 |
| Solution TPF (mL) | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1,5 | 2 | 2,5 | 10 |
| Concentration de la solution utilisée (g/L) | - | 0,01 | 0,015 | 0,025 | 0,025 | SM 0,1 | SM 0,1 | SM 0,1 | SM 0,1 | SM 0,1 |
| Concentration finale (g/L) | 0 | 0,001 | 0,0015 | 0,0025 | 0,005 | 0,01 | 0,015 | 0,02 | 0,025 | 0,1 |

Annexe 2-11 : Préparation de la gamme de NH₄ (10 points) pour le dosage de l'uréase.

| Tube | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|--|----|----|----|-----|-----|---------|---------|---------|---------|---------|
| Eau distillée (mL) | 10 | 9 | 9 | 9 | 7,5 | 9,5 | 9,25 | 9 | 8,5 | 8 |
| Solution NH ₄ (mL) | 0 | 1 | 1 | 1 | 2,5 | 0,5 | 0,75 | 1 | 1,5 | 2 |
| Concentration de la solution NH ₄ utilisée (mg/L) | | 10 | 50 | 100 | 100 | SM 1000 | SM 1000 | SM 1000 | SM 1000 | SM 1000 |
| Concentration finale (mg/L) | 0 | 1 | 5 | 10 | 25 | 50 | 75 | 100 | 150 | 200 |

Annexe 2-12 : Volumes des solutions mères pour réaliser les tampons basiques et le tampon acide lors du dosage des hétérosidases et phosphatases.

TAMPONS

Borate de sodium - Acide Chlorhydrique

| pH souhaité | X mL HCl (0,1 M) | Y mL borate de sodium (0,1 M) |
|-------------|------------------|-------------------------------|
| 7,6 | 47,5 | 52,5 |
| 7,9 | 45,0 | 55,0 |
| 8,1 | 42,5 | 57,5 |
| 8,2 | 40,0 | 60,0 |
| 8,4 | 35,0 | 65,0 |
| 8,6 | 30,0 | 70,0 |
| 8,7 | 25,0 | 75,0 |
| 8,8 | 20,0 | 80,0 |
| 8,9 | 15,0 | 85,0 |
| 9,0 | 10,0 | 90,0 |
| 9,1 | 5,0 | 95,0 |

Citrate - Phosphate de sodium dibasique

| pH souhaité | X acide citrique (0,1 M) | Y mL Phosphate de sodium dibasique (0,2 M) |
|-------------|--------------------------|--|
| 5,0 | 24,3 | 25,7 |

Annexe 2-13 : Préparation de la gamme de PNP (17 points) pour le dosage des hétérosidases et phosphatases.

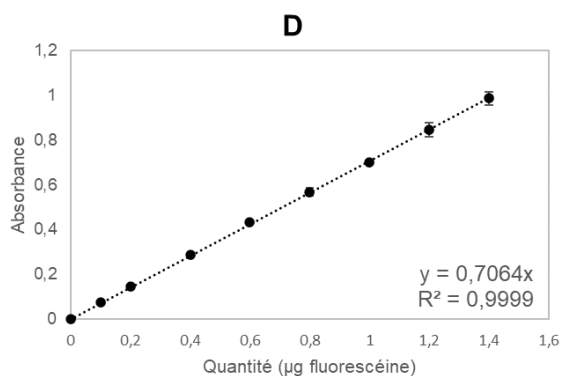
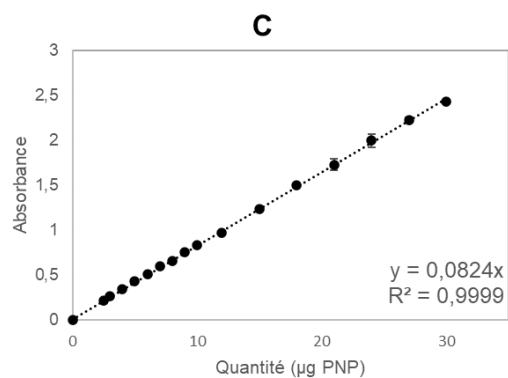
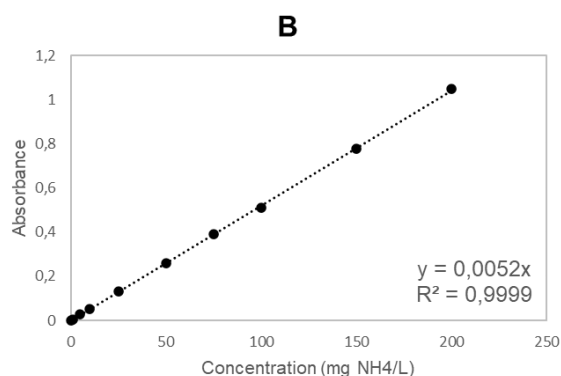
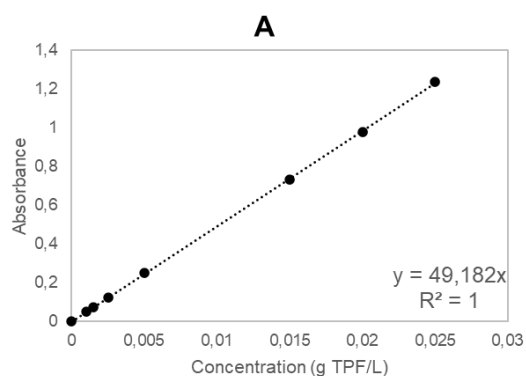
| Puit | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 | A6 | A7 | A8 | A9 | A10 | A11 |
|-----------------------------|----------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|
| Eau distillée (µl) | 125 | 100 | 95 | 85 | 75 | 65 | 55 | 45 | 35 | 25 | 5 |
| Solution PNP 0,1 g/L (µl) | 0 | 25 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 | 120 |
| Quantité finale (µg) | 0 | 2.5 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 12 |

| Puit | B1 | B2 | B3 | B4 | B5 | B6 |
|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Eau distillée (µl) | 75 | 65 | 55 | 45 | 35 | 25 |
| Solution PNP 0,3 g/L (µl) | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Quantité finale (µg) | 15 | 18 | 21 | 24 | 27 | 30 |

Annexe 2-14 : Préparation de la gamme de fluorescéine (9 points) pour le dosage de l'activité enzymatique totale.

| Puits | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 | A6 | A7 | A8 | A9 |
|------------------------------------|----------|------------|------------|------------|------------|------------|----------|------------|------------|
| Tampon (µl) | 200 | 190 | 180 | 160 | 140 | 120 | 100 | 80 | 60 |
| Solution fluorescéine 10 mg/L (µl) | | 10 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 140 |
| Quantité finale (µg) | 0 | 0.1 | 0.2 | 0.4 | 0.6 | 0.8 | 1 | 1.2 | 1.4 |

Annexe 2-15 : Gamme d'étalonnage des différentes activités enzymatiques dosées. A : déshydrogénase. B : uréase. C : hétérosidases et phosphatases. D : activité enzymatique totale.



Principe

Le principe de l'extraction de l'ADN se base sur une lyse des cellules pour la libération de l'ADN par des traitements physiques, chimiques ou enzymatique, suivie d'une extraction d'ADN et enfin une purification de l'ADN des autres contaminants.

Extraction

Commencer à solubiliser les protéines membranaires avec des détergents ainsi que les protéines extra-cellulaires et les contaminants dans le sol :

1. Peser 500 mg de l'échantillon dans des Lysing Matrix E Tube.
2. Ajouter 978µl de Sodium Phosphate Buffer.
3. Ajouter 122µl de MT Buffer.

Perturbation mécanique des parois cellulaires des organismes du sol et libération d'acides nucléiques dans le tampon protecteur :

4. Homogénéiser le mélange contenu dans les Lysing Matrix E Tube à l'aide de FastPrep pendant 2X25 seconde avec une vitesse de 6 et 5 mn de repos entre les 2 homogénéisation.

Précipitation de la matière cellulaire insoluble et des particules de la matrice de lysées :

5. Centrifuger à 14000 tour/mn pendant 10mn.

Séparer les acides nucléiques solubilisés des débris cellulaires et de la matrice lysée. Flocculation de micelles contenant des protéines :

6. Transférer le surnageant dans un nouveau tube de 2 ml. Ajouter 250µl de PPS (Protein Precipitation Solution) et mélanger en inversant les tubes 10 fois.

Élimination des protéines flocculées :

7. Centrifuger à 14000 tour/mn pendant 5mn. Transférer le surnageant dans un tube de 15ml.
8. Remettre en suspension la Binding Matrix et ajouter 1 mL au surnageant récupéré dans le tube de 15 mL (mélanger la Binding matrix avant chaque pipetage).

Les acides nucléiques se lient à la matrice de silice en présence de sels chaotropiques :

9. Inverser les tubes manuellement pendant 2 mn pour permettre la liaison de l'ADN. Placer le tube dans un portoir pendant 3mn pour permettre la sédimentation de la matrice de silice.
10. Jeter 500µl de surnageant.
11. Mettre en suspension la Binding Matrix précipitée dans les tubes de 15 ml et transférer 700µl de mélange dans des tubes Spin™ Filter et centrifuger à 14000 tour/mn pendant 1mn. Jeter le liquide et garder la matrice retenue dans le filtre. Continuer à transférer le mélange resté dans les tubes de 15ml au Spin™ Filter puis centrifuger à 14000 tour/mn pendant 1mn. Jeter le liquide et garder la matrice retenue dans le filtre.

Continuer à solubiliser les protéines :

12. Ajouter 500µl de la SEWS-M (ne pas oublier de rajouter de l'éthanol) et remettre en suspension le culot en utilisant la force du liquide de la pointe de la pipette.

Le dessalage avec de l'éthanol et des détergents supplémentaires éliminent les impuretés par centrifugation à travers le seau du filtre rotatif tandis que l'ADN purifié est encore lié à la silice :

13. Centrifuger a 14000 tour/mn pendant 1mn. Jeter le liquide et garder le culot dans le filtre.

- Sans ajout de liquide, centrifuger une seconde fois à 14000 tour/mn pendant 2mn pour sécher la matrice de la solution de lavage résiduelle. Jeter le tube collecteur et le remplacer par un nouveau tube propre.

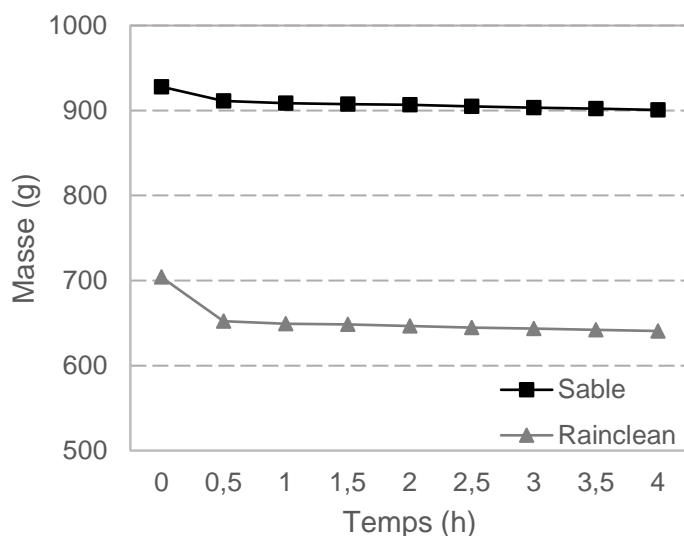
Elimination des résidus de l'éthanol :

- Laisser aérer les tubes Spin™ Filter pendant 30mn sous la hotte.

Les acides nucléiques purifiés éluent de la silice avec effondrement du pont cationique car la solution d'éluion à faible teneur en sel réhydrate à la fois la silice et l'ADN :

- Ajouter 100µl de DES (DNase/Pyrogen-Free Water) en mettant en suspension la Binding Matrix.
- Mettre les tubes à l'étuve préchauffée à 55°C pendant 5mn.
- Centrifuger a 14000 tour/mn pendant 1mn. Jeter le filtre et garder le volume d'ADN contenu dans le tube.
- Conserver l'ADN extraits au congélateur (-20°C).

Annexe 2-17 : Etude préliminaire du temps de ressuyage nécessaire pour évacuer la majorité de l'eau gravitaire dans les substrats.



Annexe 2-18 : Méthodologie associée au calcul des incertitudes selon la méthode de propagation. Exemple donné pour le Zn dans le sable de surface du filtre FS, au T1 et T2.

Tout d'abord, le calcul de la masse de Zn dans chaque échantillon est réalisé. L'incertitude peut alors être calculée pour chaque échantillon (1)

$$\Delta m_{MP} = m_{MP} * \left(\frac{\Delta T_{MP}}{T_{MP}} + \frac{\Delta \rho}{\rho} + \frac{\Delta S}{S} + \frac{\Delta h}{h} \right) \quad (1)$$

Avec $\Delta \rho = \rho * \left(\frac{\Delta \text{masse}}{\text{masse}} + \frac{\Delta \text{Volume}}{\text{Volume}} \right)$

Soit pour le premier échantillon du Tableau 2.32 :

$$\Delta m_{MP} = 2340214 * \left(\frac{6,16}{84,58} + \frac{34,8}{1563,2} + \frac{1}{177} + \frac{0,01}{0,1} \right) = 469\,881 \text{ mg.}$$

Une fois ce calcul fait pour chaque échantillon, la somme des masses de Zn des trois échantillons de sable de surface est réalisée. L'incertitude peut alors être calculée pour chaque somme :

$$\Delta m_{\text{substrat}} = \Delta m_{\text{am}} + \Delta m_{\text{c}} + \Delta m_{\text{av}}$$

Soit pour le sable de surface au T1 :

$$\Delta m_{\text{substrat}} = 469881 + 520355 + 216375 = 1\,206\,611 \text{ mg.}$$

Une fois ce calcul fait pour les deux temps, il est alors possible de calculer les teneurs volumiques en Zn dans le sable de surface au T1 et au T2. L'incertitude peut alors être calculée pour chaque campagne :

$$\Delta t_{\text{vol substrat}} = t_{\text{vol substrat}} * \left(\frac{\Delta m_{\text{tot}}}{m_{\text{tot}}} + \frac{\Delta V}{V} \right)$$

Soit pour le sable de surface au T1 :

$$\Delta t_{\text{vol substrat}} = 80441 * \left(\frac{1206611}{5494148} + \frac{6,93}{68,3} \right) = 25\,828 \text{ mg/m}^3.$$

Ainsi, au T1, la teneur volumique en Zn dans le sable de surface était de 80 441 mg/m³ soit 80,4 g/m³ et l'incertitude était de 25,8 g/m³, soit une incertitude de 32 %.

La même méthode est utilisée pour le calcul de l'accumulation du Zn. Tout d'abord, les masses accumulées entre les deux campagnes sont calculées, l'incertitude associées à cette soustraction est donc :

$$\Delta m_{\text{acc}} = \Delta m_{T1} + \Delta m_{T2}$$

Soit

$$\Delta m_{\text{acc}} = 1206611 + 2008955 = 3215566 \text{ mg}_{\text{acc}}/\sim\text{an}$$

Puis, les masses réellement accumulées en un an sont calculées et l'incertitude associées est :

$$\Delta m_{\text{acc réelle}} = m_{\text{acc réelle}} * \left(\frac{\Delta m_{\text{acc}}}{m_{\text{acc}}} + \frac{\Delta T_{\text{ps}}}{T_{\text{ps}}} \right)$$

Soit

$$\Delta m_{\text{acc réelle}} = 3691799 * \left(\frac{3215566}{3894089} + \frac{0,00068}{1,05} \right) = 3\,050\,920 \text{ mg}_{\text{acc}}/\text{an.}$$

Enfin, l'accumulation volumique du Zn dans le sable de surface de Fs est calculée. Cela permet de calculer la dernière incertitude :

$$\Delta \text{Acc}_{\text{vol}} = \text{Acc}_{\text{vol}} * \left(\frac{\Delta m_{\text{acc réelle}}}{m_{\text{acc réelle}}} + \frac{\Delta V}{V} \right)$$

Soit pour le sable de surface au T1 :

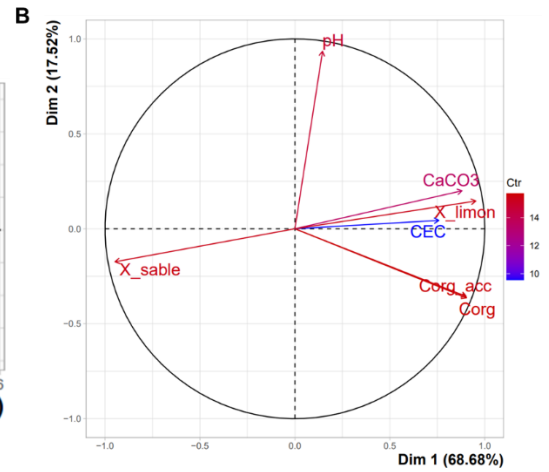
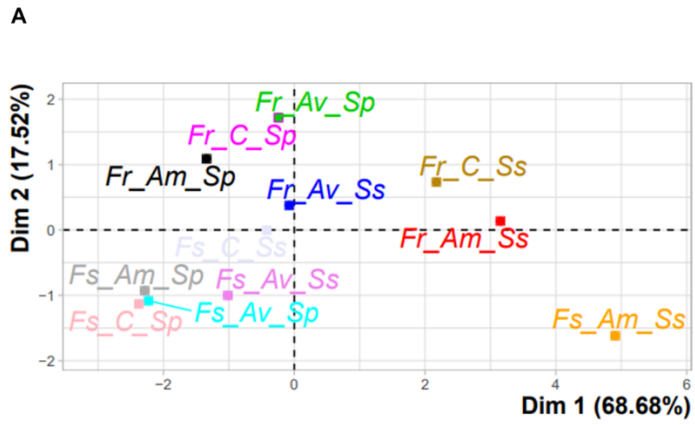
$$\Delta \text{Acc}_{\text{vol}} = 54053 * \left(\frac{3050920}{3691799} + \frac{6,93}{68,3} \right) = 50\,154 \text{ mg}_{\text{acc}}/\text{m}^3/\text{an.}$$

PARTIE 3 :

Annexe 3-1 : Pourcentage de sable, limon et argile dans les différents échantillons selon le temps (T0, T1, T2).
Sdt : sédiment ; *Ss* : sable surface ; *Sm* : sable profond ; *Rc* : Rainclean ; *Sp* : sable profond. *Am* : amont ; *C* : centre ; *Av* : aval.

| Filtre | Echantillon | Sable (%) | | | Limon (%) | | | Argile (%) | | |
|--------------|---------------|-----------|------|------|-----------|------|------|------------|-----|-----|
| | | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 |
| FS | Sdt-Am | | 31,1 | 35,8 | | 63,0 | 58,8 | | 5,9 | 5,4 |
| | Ss-Am | 97,1 | 91,3 | 90,7 | 2,3 | 7,6 | 8,3 | 0,5 | 1,1 | 1,1 |
| | Ss-C | 97,2 | 94,5 | 95,6 | 2,3 | 4,5 | 3,8 | 0,5 | 0,9 | 0,6 |
| | Ss-Av | 96,8 | 95,0 | 96,0 | 2,6 | 4,1 | 3,4 | 0,6 | 0,9 | 0,6 |
| | Sp-Am | 97,1 | 96,8 | 97,4 | 2,3 | 2,6 | 2,1 | 0,5 | 0,6 | 0,4 |
| | Sp-C | 97,2 | 97,1 | 97,8 | 2,3 | 2,4 | 1,8 | 0,5 | 0,6 | 0,4 |
| | Sp-Av | 96,8 | 96,7 | 97,6 | 2,6 | 2,7 | 2,0 | 0,6 | 0,7 | 0,5 |
| FR | Sdt-Am | | 27,4 | 34,4 | | 65,2 | 60,0 | | 7,4 | 5,6 |
| | Ss-Am | 97,7 | 84,6 | 90,5 | 1,9 | 13,7 | 8,4 | 0,4 | 1,7 | 1,1 |
| | Ss-C | 97,6 | 94,9 | 90,3 | 2,0 | 4,5 | 8,5 | 0,4 | 0,7 | 1,2 |
| | Ss-Av | 97,2 | 95,7 | 95,8 | 2,3 | 3,6 | 3,6 | 0,5 | 0,7 | 0,6 |
| | Rc-Am | 87,2 | 80,5 | 81,0 | 11,5 | 18,0 | 17,5 | 1,3 | 1,5 | 1,6 |
| | Rc-C | 90,3 | 81,9 | 82,5 | 8,4 | 16,6 | 16,1 | 1,2 | 1,5 | 1,4 |
| | Rc-Av | 91,9 | 86,6 | 83,8 | 7,1 | 12,3 | 15,0 | 1,0 | 1,1 | 1,3 |
| | Sp-Am | 97,8 | 97,0 | 96,7 | 1,7 | 2,6 | 2,7 | 0,5 | 0,4 | 0,6 |
| | Sp-C | 97,8 | 96,7 | 94,4 | 1,7 | 2,7 | 4,7 | 0,5 | 0,6 | 1,0 |
| Sp-Av | 97,8 | 96,7 | 94,4 | 1,7 | 2,7 | 4,7 | 0,5 | 0,6 | 1,0 | |

Annexe 3-2 : Analyse en Composante Principale (ACP) des différents échantillons de sable de surface et profond lors de la campagne T2. **A** : Graphique des individus : projection de la variabilité de l'ensemble des données sur une carte factorielle des deux premiers axes discriminants. Am : amont ; C : centre ; Av : aval ; Ss : sable de surface ; Sp : sable profond. **B** : Graphique des variables : cercle de corrélation des vecteurs des variables étudiées (pH, carbonates CaCO_3 , pourcentage de limon X_{limon} , pourcentage de sable X_{sable} , CEC, carbone organique C_{org}). Les deux premiers axes expliquent 86,2 % de l'inertie totale du jeu de données.



Annexe 3-3 : Epaisseurs moyennes (cm) du sédiment et écart-type associé selon la distance depuis la zone d'entrée de l'eau dans les deux FPR (FS et FR) lors des campagne T0 et T1.

| Filtre | T1 | | | T2 | | |
|--------|----------------------------|------------------------|------------|----------------------------|------------------------|------------|
| | Distance depuis entrée (m) | Epaisseur moyenne (cm) | Ecart-type | Distance depuis entrée (m) | Epaisseur moyenne (cm) | Ecart-type |
| FS | 0 | 12,0 | 0,0 | | | |
| | 3 | 4,5 | 0,7 | 3 | 8,2 | 1,8 |
| | 4 | 3,5 | 0,0 | 4 | 9,2 | 0,1 |
| | 6 | 1,8 | 0,3 | 6 | 9,9 | 4,2 |
| | 8 | 1,2 | 0,3 | 8 | 7,7 | 0,6 |
| | 10 | 1,5 | 0,5 | 11 | 6,4 | 0,9 |
| | 11 | 1,2 | 0,3 | 14 | 5,5 | 0,5 |
| | 13 | 1,0 | 0,0 | 17 | 4,8 | 0,7 |
| | 16 | 0,9 | 0,3 | 19 | 4,3 | 0,9 |
| | 18 | 0,8 | 0,3 | 21 | 3,2 | 0,9 |
| | 20 | 1,0 | 0,5 | 24 | 2,3 | 0,3 |
| | 22 | 0,6 | 0,4 | 26 | 1,8 | 0,0 |
| | 24 | 0,4 | 0,2 | 29 | 1,5 | 0,3 |
| | 27 | 0,3 | 0,3 | 32 | 1,1 | 0,2 |
| | 29 | 0,2 | 0,3 | 34 | 0,8 | 0,0 |
| FR | 0 | 8,0 | 2,8 | | | |
| | 1 | 4,0 | 0,0 | 3 | 9,6 | 0,5 |
| | 3 | 5,0 | 0,0 | 5 | 9,7 | 0,2 |
| | 5 | 3,8 | 1,8 | 7 | 6,8 | 1,0 |
| | 7 | 2,3 | 0,4 | 9 | 8,0 | 0,9 |
| | 9 | 2,0 | 0,7 | 12 | 7,4 | 0,7 |
| | 11 | 2,1 | 0,1 | 14 | 6,6 | 0,7 |
| | 13 | 2,0 | 0,0 | 17 | 5,8 | 0,8 |
| | 15 | 2,0 | 0,4 | 19 | 5,3 | 0,4 |
| | 16 | 1,5 | 0,0 | 21 | 4,7 | 0,4 |
| | 18 | 1,6 | 0,3 | 23 | 3,0 | 0,1 |
| | 19 | 1,3 | 0,2 | 26 | 2,6 | 0,2 |
| | 21 | 1,1 | 0,4 | 28 | 2,3 | 0,8 |
| | 23 | 0,9 | 0,4 | 31 | 1,8 | 0,2 |
| | 25 | 0,6 | 0,1 | 33 | 1,5 | 0,1 |
| 27 | 0,8 | 0,3 | 35 | 1,4 | 0,3 | |
| 29 | 0,8 | 0,2 | 38 | 1,1 | 0,1 | |

Annexe 3-4 : Incertitudes associées aux teneurs en métaux mesurées au cours des trois campagnes (T0, T1, T2) dans les différents échantillons. Sdt : sédiment ; Ss : sable surface ; Sm : sable profond ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond. Am : amont ; C : centre ; Av : aval.

| Filtre | Echantillon | Cd (mg/kg) | | | Cr (mg/kg) | | | Cu (mg/kg) | | | Ni (mg/kg) | | | Pb (mg/kg) | | | Zn (mg/kg) | | |
|--------|-------------|------------|-------|-------|------------|------|------|------------|-------|------|------------|------|------|------------|-------|--------|------------|--------|------|
| | | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 |
| FS | Sdt-Am | 0,113 | 0,059 | | 8,05 | 7,64 | | 28,73 | 17,62 | | 6,16 | 3,86 | | 10,77 | 9,90 | | 62,181 | 39,39 | |
| | Ss-Am | 0,022 | 0,029 | 0,015 | 3,04 | 3,39 | 3,54 | 1,31 | 2,45 | 1,94 | 3,85 | 4,19 | 1,82 | 2,36 | 2,93 | 1,88 | 3,1518 | 6,1624 | 4,41 |
| | Ss-C | 0,022 | 0,024 | 0,013 | 3,08 | 3,20 | 3,36 | 1,31 | 1,69 | 1,04 | 3,84 | 4,03 | 1,94 | 2,38 | 2,43 | 1,38 | 3,1434 | 4,3509 | 2,35 |
| | Ss-Av | 0,022 | 0,024 | 0,012 | 3,14 | 3,29 | 3,30 | 1,29 | 1,63 | 0,86 | 3,92 | 4,11 | 2,02 | 2,36 | 2,54 | 1,29 | 3,1518 | 4,1375 | 1,79 |
| | Sp-Am | 0,022 | 0,023 | 0,012 | 3,04 | 3,22 | 3,18 | 1,31 | 1,38 | 0,61 | 3,85 | 4,03 | 1,78 | 2,36 | 2,41 | 1,17 | 3,1518 | 3,371 | 1,12 |
| | Sp-C | 0,022 | 0,023 | 0,012 | 3,08 | 3,21 | 3,26 | 1,31 | 1,37 | 0,62 | 3,84 | 4,07 | 2,25 | 2,38 | 2,40 | 1,23 | 3,1434 | 3,3009 | 1,04 |
| | Sp-Av | 0,022 | 0,022 | 0,011 | 3,14 | 3,19 | 3,24 | 1,29 | 1,36 | 0,59 | 3,92 | 4,12 | 1,91 | 2,36 | 2,40 | 1,21 | 3,1518 | 3,3097 | 0,98 |
| FR | Sdt-Am | 0,111 | 0,063 | | 8,12 | 7,91 | | 25,29 | 17,18 | | 6,06 | 3,87 | | 10,33 | 10,43 | | 58,765 | 38,55 | |
| | Ss-Am | 0,022 | 0,025 | 0,014 | 2,93 | 3,33 | 3,44 | 1,27 | 2,05 | 1,38 | 3,66 | 4,26 | 1,94 | 2,33 | 2,58 | 1,66 | 3,0678 | 5,3623 | 3,30 |
| | Ss-C | 0,022 | 0,024 | 0,013 | 3,45 | 3,32 | 3,29 | 1,31 | 1,67 | 1,08 | 4,27 | 4,26 | 1,79 | 2,39 | 2,48 | 1,50 | 3,2988 | 4,2518 | 2,37 |
| | Ss-Av | 0,022 | 0,023 | 0,012 | 3,10 | 3,10 | 3,13 | 1,30 | 1,41 | 0,78 | 3,89 | 3,87 | 1,47 | 2,35 | 2,36 | 1,27 | 3,1308 | 3,4592 | 1,53 |
| | Rc-Am | 0,026 | 0,027 | 0,016 | 4,18 | 4,01 | 4,33 | 2,61 | 2,91 | 2,24 | 7,01 | 5,70 | 3,96 | 2,52 | 2,57 | 1,48 | 6,0498 | 5,9301 | 3,95 |
| | Rc-C | 0,027 | 0,028 | 0,015 | 4,33 | 4,87 | 4,79 | 2,92 | 3,00 | 2,64 | 6,11 | 6,32 | 4,97 | 2,56 | 2,63 | 1,51 | 6,2556 | 6,4421 | 3,78 |
| | Rc-Av | 0,028 | 0,028 | 0,016 | 4,03 | 4,77 | 5,51 | 3,17 | 4,75 | 3,86 | 5,50 | 6,33 | 5,84 | 2,52 | 2,66 | 1,77 | 5,8818 | 6,5609 | 4,64 |
| | Sp-Am | 0,023 | 0,023 | 0,011 | 3,12 | 3,27 | 3,20 | 1,32 | 1,43 | 0,58 | 4,06 | 4,69 | 1,88 | 2,38 | 2,40 | 1,22 | 3,2064 | 3,4492 | 0,96 |
| | Sp-C | 0,023 | 0,023 | 0,012 | 3,12 | 3,24 | 3,39 | 1,32 | 1,42 | 0,61 | 4,06 | 4,20 | 2,03 | 2,38 | 2,59 | 1,26 | 3,2064 | 3,4865 | 0,96 |
| Sp-Av | 0,023 | 0,023 | 0,011 | 3,12 | 3,24 | 3,19 | 1,32 | 1,42 | 0,56 | 4,06 | 4,20 | 1,82 | 2,38 | 2,59 | 1,23 | 3,2064 | 3,4865 | 0,87 | |

Annexe 3-5 : Bilan des teneurs volumiques (mg/m³) par échantillon, des teneurs volumiques des substrats et des masses surfaciques des zones (mg/m²), pour chaque campagne (T0, T1 et T2), filtre et métal (FS et FR). Les teneurs volumiques sont obtenues en sommant la masse de chaque échantillon appartenant à un même substrat (Sdt : sédiment ; Ss : sable surface ; Sm : sable profond ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond) puis en la divisant par le volume associé. Les masses surfaciques sont obtenues en sommant la masse chaque échantillon appartenant à une même zone (Am : amont ; C : centre ; Av : aval) puis en la divisant par la surface associée.

| Filtre FS | Unité | T0 | | | | | | T1 | | | | | | T2 | | | | | |
|----------------------|------------------|------|------|-----|------|-----|------|------|------|-------|------|-------|-------|------|------|-------|------|-------|-------|
| | | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
| Sdt-Am | g/m ³ | | | | | | | 0,93 | 54,6 | 398,3 | 22,9 | 130,7 | 860,9 | 1,00 | 50,5 | 348,1 | 21,3 | 134,9 | 789,0 |
| Ss-Am | g/m ³ | 0,05 | 12,3 | 5,2 | 15,4 | 8,1 | 20,7 | 0,22 | 21,0 | 47,6 | 21,5 | 29,9 | 132,2 | 0,25 | 24,4 | 78,4 | 19,2 | 33,5 | 206,4 |
| Ss-C | g/m ³ | 0,06 | 13,4 | 5,2 | 15,3 | 8,8 | 20,4 | 0,10 | 16,1 | 19,4 | 18,5 | 10,5 | 64,8 | 0,14 | 20,0 | 31,7 | 21,2 | 14,2 | 100,2 |
| Ss-Av | g/m ³ | 0,06 | 15,1 | 4,7 | 16,8 | 8,1 | 20,7 | 0,10 | 18,4 | 17,2 | 20,0 | 15,0 | 56,9 | 0,12 | 18,6 | 22,6 | 22,6 | 10,7 | 71,4 |
| Sm-Am | g/m ³ | 0,05 | 12,3 | 5,2 | 15,4 | 8,1 | 20,7 | 0,06 | 15,2 | 7,3 | 16,9 | 8,9 | 26,1 | 0,08 | 15,8 | 10,2 | 18,9 | 6,3 | 37,9 |
| Sm-C | g/m ³ | 0,06 | 13,4 | 5,2 | 15,3 | 8,8 | 20,4 | 0,06 | 15,2 | 6,9 | 17,7 | 8,7 | 23,7 | 0,08 | 17,9 | 10,6 | 27,2 | 8,6 | 33,5 |
| Sm-Av | g/m ³ | 0,06 | 15,1 | 4,7 | 16,8 | 8,1 | 20,7 | 0,05 | 14,7 | 6,6 | 18,5 | 8,5 | 24,0 | 0,08 | 17,4 | 8,9 | 21,1 | 8,0 | 30,7 |
| Sp-Am | g/m ³ | 0,05 | 12,3 | 5,2 | 15,4 | 8,1 | 20,7 | 0,06 | 15,2 | 7,3 | 16,9 | 8,9 | 26,1 | 0,08 | 15,8 | 10,2 | 18,9 | 6,3 | 37,9 |
| Sp-C | g/m ³ | 0,06 | 13,4 | 5,2 | 15,3 | 8,8 | 20,4 | 0,06 | 15,2 | 6,9 | 17,7 | 8,7 | 23,7 | 0,08 | 17,9 | 10,6 | 27,2 | 8,6 | 33,5 |
| Sp-Av | g/m ³ | 0,06 | 15,1 | 4,7 | 16,8 | 8,1 | 20,7 | 0,05 | 14,7 | 6,6 | 18,5 | 8,5 | 24,0 | 0,08 | 17,4 | 8,9 | 21,1 | 8,0 | 30,7 |
| Sédiment | g/m ³ | | | | | | | 0,93 | 54,6 | 398,3 | 22,9 | 130,7 | 860,9 | 1,00 | 50,5 | 348,1 | 21,3 | 134,9 | 789,0 |
| Sable surface | g/m ³ | 0,06 | 13,9 | 5,0 | 15,9 | 8,4 | 20,5 | 0,13 | 17,9 | 26,2 | 19,6 | 16,6 | 80,4 | 0,18 | 21,5 | 49,0 | 20,7 | 21,4 | 137,5 |
| Sable moyen | g/m ³ | 0,06 | 13,9 | 5,0 | 15,9 | 8,4 | 20,5 | 0,06 | 15,1 | 7,0 | 17,7 | 8,7 | 24,3 | 0,08 | 16,9 | 10,0 | 22,2 | 7,5 | 34,6 |
| Sable profond | g/m ³ | 0,06 | 13,9 | 5,0 | 15,9 | 8,4 | 20,5 | 0,06 | 15,1 | 7,0 | 17,7 | 8,7 | 24,3 | 0,08 | 16,9 | 10,0 | 22,2 | 7,5 | 34,6 |
| Amont | g/m ² | 0,02 | 4,9 | 2,1 | 6,2 | 3,2 | 8,3 | 0,05 | 7,4 | 12,2 | 7,5 | 7,4 | 32,5 | 0,07 | 8,4 | 19,6 | 8,1 | 8,6 | 51,7 |
| Centre | g/m ² | 0,02 | 5,4 | 2,1 | 6,1 | 3,5 | 8,1 | 0,03 | 6,2 | 4,0 | 7,2 | 3,7 | 13,6 | 0,04 | 7,4 | 6,3 | 10,3 | 4,0 | 20,1 |
| Aval | g/m ² | 0,02 | 6,0 | 1,9 | 6,7 | 3,2 | 8,3 | 0,03 | 6,2 | 3,7 | 7,6 | 4,0 | 12,9 | 0,04 | 7,1 | 4,9 | 8,6 | 3,5 | 16,3 |
| FS total | g/m ² | 0,02 | 5,5 | 2,0 | 6,4 | 3,4 | 8,2 | 0,03 | 6,5 | 6,1 | 7,3 | 4,7 | 18,3 | 0,05 | 7,7 | 11,5 | 8,9 | 5,8 | 32,4 |

Annexe 3-5 (suite)

| Filtre FR | Unité | T0 | | | | | | T1 | | | | | | T2 | | | | | |
|----------------------|------------------|------|------|------|------|-----|------|------|------|-------|------|-------|-------|------|------|-------|------|-------|-------|
| | | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
| Sdt-Am | g/m ³ | | | | | | | 0,94 | 57,1 | 360,7 | 23,0 | 128,3 | 839,7 | 1,11 | 55,0 | 350,8 | 22,1 | 147,9 | 798,5 |
| Ss-Am | g/m ³ | 0,06 | 9,3 | 3,8 | 11,4 | 6,6 | 17,0 | 0,12 | 18,4 | 30,9 | 21,5 | 15,6 | 96,5 | 0,19 | 21,1 | 47,1 | 20,3 | 24,0 | 142,6 |
| Ss-C | g/m ³ | 0,06 | 22,7 | 5,3 | 23,1 | 9,1 | 25,6 | 0,09 | 18,1 | 17,4 | 21,6 | 11,9 | 57,6 | 0,14 | 17,4 | 32,2 | 17,8 | 18,1 | 97,1 |
| Ss-Av | g/m ³ | 0,05 | 13,6 | 4,9 | 15,8 | 7,3 | 19,4 | 0,07 | 12,9 | 8,5 | 14,5 | 7,3 | 29,8 | 0,09 | 13,6 | 17,9 | 12,7 | 9,6 | 55,7 |
| Rc-Am | g/m ³ | 0,05 | 12,1 | 15,7 | 22,2 | 4,1 | 37,7 | 0,06 | 13,0 | 22,8 | 17,7 | 5,6 | 43,5 | 0,12 | 16,6 | 35,0 | 20,8 | 6,8 | 68,2 |
| Rc-C | g/m ³ | 0,05 | 13,3 | 19,1 | 17,1 | 4,6 | 39,9 | 0,07 | 20,8 | 24,0 | 21,9 | 6,5 | 50,2 | 0,10 | 21,0 | 42,6 | 27,3 | 7,2 | 64,9 |
| Rc-Av | g/m ³ | 0,06 | 11,0 | 21,9 | 13,7 | 4,2 | 35,8 | 0,07 | 19,8 | 46,8 | 21,9 | 6,9 | 51,7 | 0,12 | 27,7 | 65,9 | 32,9 | 10,9 | 81,4 |
| Sp-Am | g/m ³ | 0,07 | 14,5 | 5,6 | 19,6 | 8,9 | 22,8 | 0,07 | 16,5 | 8,8 | 28,6 | 8,8 | 28,7 | 0,07 | 16,3 | 8,5 | 20,8 | 8,1 | 29,5 |
| Sp-C | g/m ³ | 0,07 | 14,5 | 5,6 | 19,6 | 8,9 | 22,8 | 0,08 | 15,8 | 8,5 | 19,9 | 15,6 | 30,0 | 0,08 | 21,1 | 10,0 | 23,3 | 10,0 | 29,3 |
| Sp-Av | g/m ³ | 0,07 | 14,5 | 5,6 | 19,6 | 8,9 | 22,8 | 0,08 | 15,8 | 8,5 | 19,9 | 15,6 | 30,0 | 0,07 | 16,1 | 7,4 | 19,6 | 8,9 | 24,5 |
| Sédiment | g/m ³ | | | | | | | 0,94 | 57,1 | 360,7 | 23,0 | 128,3 | 839,7 | 1,11 | 55,0 | 350,8 | 22,1 | 147,9 | 798,5 |
| Sable surface | g/m ³ | 0,06 | 16,6 | 4,9 | 18,1 | 7,9 | 21,5 | 0,09 | 16,2 | 17,2 | 18,9 | 11,0 | 56,3 | 0,14 | 17,1 | 31,4 | 16,6 | 16,7 | 95,4 |
| Rainclean | g/m ³ | 0,05 | 12,1 | 19,9 | 16,2 | 4,3 | 37,7 | 0,07 | 18,6 | 32,3 | 20,9 | 6,4 | 49,2 | 0,11 | 22,3 | 49,4 | 27,4 | 8,5 | 72,5 |
| Sable profond | g/m ³ | 0,07 | 14,5 | 5,6 | 19,6 | 8,9 | 22,8 | 0,07 | 16,0 | 8,6 | 22,0 | 14,0 | 29,7 | 0,07 | 17,6 | 8,5 | 21,0 | 8,9 | 27,5 |
| Amont | g/m ² | 0,02 | 4,8 | 4,1 | 7,5 | 2,4 | 11,5 | 0,05 | 7,1 | 14,6 | 8,9 | 5,7 | 35,5 | 0,09 | 9,0 | 25,2 | 9,1 | 9,9 | 59,5 |
| Centre | g/m ² | 0,02 | 6,4 | 4,9 | 7,7 | 2,7 | 12,8 | 0,03 | 7,5 | 7,4 | 8,5 | 4,0 | 18,8 | 0,04 | 8,1 | 12,7 | 9,6 | 4,2 | 25,6 |
| Aval | g/m ² | 0,02 | 5,0 | 5,4 | 6,3 | 2,5 | 11,4 | 0,03 | 6,8 | 11,1 | 7,8 | 3,7 | 16,3 | 0,04 | 8,5 | 15,7 | 9,8 | 4,0 | 24,3 |
| Somme FR | g/m ² | 0,02 | 5,5 | 5,0 | 7,0 | 2,5 | 12,0 | 0,03 | 7,2 | 10,5 | 8,4 | 4,3 | 21,8 | 0,06 | 8,6 | 17,9 | 9,5 | 6,0 | 36,0 |

Annexe 3-6 : Facteurs d'enrichissement en métaux extrapolés à 9 ans d'alimentation. Sdt : sédiment ; Ss : sable surface ; Sm : sable profond ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond. Am : amont ; C : centre ; Av : aval.

| FS | Facteur d'enrichissement entre T0 et T2 (9 ans) | | | | | | FR | Facteur d'enrichissement entre T0 et T2 (9 ans) | | | | | |
|-------------------|---|-----|------|-----|------|------|-------------------|---|------|------|------|------|------|
| | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
| Ss-Am | 20,0 | 8,3 | 62,8 | 5,2 | 17,4 | 41,8 | Ss-Am | 14,1 | 9,9 | 53,6 | 7,8 | 15,8 | 36,4 |
| Ss-C | 9,3 | 6,3 | 25,6 | 5,8 | 6,8 | 20,6 | Ss-C | 10,0 | 3,3 | 26,3 | 3,3 | 8,7 | 16,5 |
| Ss-Av | 8,6 | 5,1 | 20,2 | 5,6 | 5,5 | 14,4 | Ss-Av | 7,7 | 4,3 | 15,9 | 3,5 | 5,7 | 12,5 |
| Sm-Am | 6,4 | 5,4 | 8,2 | 5,1 | 3,3 | 7,7 | Rc-Am | 11,2 | 6,0 | 9,7 | 4,1 | 7,2 | 7,9 |
| Sm-C | 5,5 | 5,6 | 8,6 | 7,5 | 4,1 | 6,9 | Rc-C | 8,3 | 6,9 | 9,7 | 6,9 | 6,8 | 7,1 |
| Sm-Av | 5,6 | 4,8 | 7,9 | 5,3 | 4,1 | 6,2 | Rc-Av | 8,7 | 10,9 | 13,1 | 10,4 | 11,3 | 9,9 |
| Sp-Am | 6,4 | 5,4 | 8,2 | 5,1 | 3,3 | 7,7 | Sp-Am | 4,1 | 4,9 | 6,5 | 4,6 | 4,0 | 5,6 |
| Sp-C | 5,5 | 5,6 | 8,6 | 7,5 | 4,1 | 6,9 | Sp-C | 4,7 | 6,4 | 7,7 | 5,2 | 4,9 | 5,6 |
| Sp-Av | 5,6 | 4,8 | 7,9 | 5,3 | 4,1 | 6,2 | Sp-Av | 3,9 | 4,8 | 5,7 | 4,3 | 4,4 | 4,7 |
| Moyenne Ss | 12,7 | 6,6 | 36,2 | 5,5 | 9,9 | 25,6 | Moyenne Ss | 10,6 | 5,8 | 32,0 | 4,9 | 10,1 | 21,8 |
| Moyenne Sm | 5,8 | 5,3 | 8,2 | 5,9 | 3,8 | 6,9 | Moyenne Rc | 9,4 | 7,9 | 10,8 | 7,2 | 8,4 | 8,3 |
| Moyenne Sp | 5,8 | 5,3 | 8,2 | 5,9 | 3,8 | 6,9 | Moyenne Sp | 4,2 | 5,4 | 6,7 | 4,7 | 4,4 | 5,3 |

Annexe 3-7 : Bilan de l'accumulation en métaux entre les différentes campagnes (entre T0 et T1, entre T1 et T2 et entre T0 et T2) dans les différents échantillons (accumulation volumique, g/m³/an), puis en regroupant les différents substrats (g/m³/an), les différentes zones (accumulation surfacique g/m²/an) de chaque filtre et en regroupant l'ensemble de chaque filtre (g/m²/an). Sdt : sédiment ; Ss : sable surface ; Sm : sable profond ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond ; Am : amont ; C : centre ; Av : aval.

| FS | Unité | Accumulation entre T0 et T1 | | | | | | Accumulation entre T1 et T2 | | | | | | Accumulation entre T0 et T2 | | | | | |
|----------------------|----------------------|-----------------------------|------|-------|------|-------|-------|-----------------------------|------|-------|------|------|-------|-----------------------------|------|-------|------|------|-------|
| | | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
| Sdt-Am | g/m ³ /an | 0,84 | 49,7 | 362,5 | 20,9 | 119,0 | 783,7 | 0,07 | -3,9 | -47,6 | -1,5 | 3,9 | -68,3 | 0,46 | 23,4 | 161,6 | 9,9 | 62,6 | 366,4 |
| Ss-Am | g/m ³ /an | 0,17 | 12,6 | 40,5 | 11,3 | 22,9 | 109,3 | 0,11 | 10,9 | 46,5 | 5,6 | 14,3 | 118,4 | 0,11 | 9,3 | 35,5 | 6,3 | 14,2 | 92,4 |
| Ss-C | g/m ³ /an | 0,04 | 3,3 | 13,2 | 3,9 | 2,1 | 41,7 | -0,03 | -5,0 | 1,1 | -7,6 | -2,3 | -2,0 | 0,02 | 0,2 | 11,2 | -0,6 | 0,6 | 32,6 |
| Ss-Av | g/m ³ /an | 0,00 | -5,5 | 8,8 | -6,6 | 1,7 | 21,3 | 0,03 | 1,9 | 6,8 | 4,5 | -2,6 | 19,3 | 0,02 | -1,6 | 7,3 | -0,8 | -0,5 | 19,2 |
| Sm-Am | g/m ³ /an | 0,03 | 7,3 | 3,9 | 7,2 | 3,8 | 12,7 | 0,04 | 6,0 | 5,4 | 8,0 | 0,8 | 20,7 | 0,03 | 5,3 | 3,9 | 6,2 | 1,6 | 14,1 |
| Sm-C | g/m ³ /an | 0,00 | 2,5 | 1,9 | 3,2 | 0,5 | 4,3 | -0,01 | -5,7 | -0,4 | -0,7 | -5,0 | -3,7 | 0,00 | -0,8 | 1,4 | 2,2 | -2,0 | 1,6 |
| Sm-Av | g/m ³ /an | -0,04 | -8,9 | -0,9 | -7,9 | -4,2 | -8,7 | 0,03 | 4,0 | 2,8 | 4,3 | 0,4 | 8,7 | 0,00 | -2,1 | 0,9 | -1,5 | -1,7 | 0,3 |
| Sp-Am | g/m ³ /an | 0,03 | 7,3 | 3,9 | 7,2 | 3,8 | 12,7 | 0,04 | 6,0 | 5,4 | 8,0 | 0,8 | 20,7 | 0,03 | 5,3 | 3,9 | 6,2 | 1,6 | 14,1 |
| Sp-C | g/m ³ /an | 0,00 | 2,5 | 1,9 | 3,2 | 0,5 | 4,3 | -0,01 | -5,7 | -0,4 | -0,7 | -5,0 | -3,7 | 0,00 | -0,8 | 1,4 | 2,2 | -2,0 | 1,6 |
| Sp-Av | g/m ³ /an | -0,04 | -8,9 | -0,9 | -7,9 | -4,2 | -8,7 | 0,03 | 4,0 | 2,8 | 4,3 | 0,4 | 8,7 | 0,00 | -2,1 | 0,9 | -1,5 | -1,7 | 0,3 |
| Sédiment | g/m ³ /an | 0,84 | 49,7 | 362,5 | 20,9 | 119,0 | 783,7 | 0,07 | -3,9 | -47,6 | -1,5 | 3,9 | -68,3 | 0,46 | 23,4 | 161,6 | 9,9 | 62,6 | 366,4 |
| Sable surface | g/m ³ /an | 0,07 | 3,7 | 19,3 | 3,4 | 7,4 | 54,5 | 0,05 | 3,4 | 21,6 | 1,0 | 4,6 | 54,1 | 0,06 | 3,6 | 20,4 | 2,2 | 6,0 | 54,3 |
| Sable moyen | g/m ³ /an | 0,00 | 1,1 | 1,8 | 1,6 | 0,3 | 3,5 | 0,02 | 1,7 | 2,9 | 4,2 | -1,2 | 9,7 | 0,01 | 1,4 | 2,3 | 2,9 | -0,4 | 6,5 |
| Sable profond | g/m ³ /an | 0,00 | 1,1 | 1,8 | 1,6 | 0,3 | 3,5 | 0,02 | 1,7 | 2,9 | 4,2 | -1,2 | 9,7 | 0,01 | 1,4 | 2,3 | 2,9 | -0,4 | 6,5 |
| Amont | g/m ² /an | 0,03 | 2,1 | 9,2 | 1,3 | 3,7 | 22,1 | 0,03 | 1,4 | 9,9 | 0,7 | 2,5 | 25,1 | 0,02 | 1,5 | 8,1 | 0,9 | 2,4 | 20,2 |
| Centre | g/m ² /an | 0,00 | 0,6 | 1,8 | 0,8 | 0,2 | 4,9 | 0,004 | 0,2 | 1,6 | 1,8 | -0,3 | 4,1 | 0,01 | 0,8 | 2,0 | 1,8 | 0,3 | 5,5 |
| Aval | g/m ² /an | 0,00 | 0,2 | 1,7 | 0,7 | 0,7 | 4,2 | 0,01 | 2,0 | 1,9 | 2,5 | 0,2 | 5,8 | 0,01 | 0,5 | 1,4 | 0,9 | 0,1 | 3,7 |
| FS total | g/m ² /an | 0,01 | 0,9 | 3,7 | 0,9 | 1,2 | 9,2 | 0,02 | 1,2 | 5,2 | 1,5 | 1,0 | 13,4 | 0,01 | 1,0 | 4,4 | 1,2 | 1,1 | 11,2 |

Annexe 3-7 (suite).

| FR | Unité | Accumulation entre T0 et T1 | | | | | | Accumulation entre T1 et T2 | | | | | | Accumulation entre T0 et T2 | | | | | |
|----------------------|----------------------|-----------------------------|------|-------|------|-------|-------|-----------------------------|------|------|-------|-------|-------|-----------------------------|------|-------|------|------|-------|
| | | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
| Sdt-Am | g/m ³ /an | 0,89 | 54,1 | 342,0 | 21,8 | 121,6 | 796,0 | 0,17 | -2,1 | -9,7 | -0,9 | 19,3 | -40,4 | 0,54 | 26,5 | 169,1 | 10,7 | 71,3 | 385,0 |
| Ss-Am | g/m ³ /an | 0,08 | 12,2 | 27,2 | 14,0 | 11,1 | 82,0 | 0,10 | 7,6 | 24,2 | 4,6 | 12,5 | 71,2 | 0,08 | 8,3 | 21,9 | 7,5 | 10,2 | 65,3 |
| Ss-C | g/m ³ /an | 0,03 | -4,7 | 11,3 | -1,8 | 2,5 | 29,9 | 0,01 | -7,7 | 7,9 | -12,1 | 1,5 | 16,6 | 0,03 | -7,1 | 11,9 | -7,2 | 2,5 | 29,3 |
| Ss-Av | g/m ³ /an | 0,00 | -3,9 | 2,3 | -4,8 | -1,7 | 5,4 | 0,03 | 1,4 | 9,7 | -1,1 | 2,6 | 27,0 | 0,01 | -1,2 | 5,9 | -2,8 | 0,5 | 15,9 |
| Rc-Am | g/m ³ /an | 0,04 | 5,6 | 12,9 | 4,4 | 3,0 | 20,2 | 0,07 | 7,1 | 18,1 | 7,9 | 2,7 | 35,9 | 0,05 | 5,5 | 13,6 | 5,5 | 2,4 | 25,1 |
| Rc-C | g/m ³ /an | 0,01 | 6,9 | 4,3 | 4,2 | 1,8 | 9,0 | 0,01 | -7,8 | 9,1 | -3,0 | -1,8 | -4,9 | 0,01 | 1,1 | 7,5 | 1,5 | 0,3 | 4,0 |
| Rc-Av | g/m ³ /an | 0,00 | 5,8 | 18,7 | 4,6 | 1,6 | 6,9 | 0,05 | 8,8 | 21,2 | 11,9 | 4,3 | 31,9 | 0,02 | 7,1 | 19,4 | 8,1 | 2,9 | 19,0 |
| Sp-Am | g/m ³ /an | 0,03 | 7,6 | 5,2 | 16,2 | 3,4 | 14,6 | 0,02 | 4,2 | 2,1 | 0,0 | 1,7 | 8,5 | 0,02 | 4,9 | 2,9 | 6,0 | 2,1 | 9,5 |
| Sp-C | g/m ³ /an | 0,00 | 1,1 | 2,6 | 0,0 | 6,2 | 6,5 | -0,03 | -0,8 | -1,8 | -4,4 | -11,5 | -12,3 | -0,01 | 0,3 | 1,0 | -2,1 | -1,2 | -1,4 |
| Sp-Av | g/m ³ /an | -0,02 | -2,0 | 1,4 | -4,1 | 4,4 | 1,7 | 0,00 | 1,1 | -0,6 | 0,7 | -5,8 | -3,8 | -0,01 | -0,4 | 0,4 | -1,6 | -0,7 | -1,1 |
| Sédiment | g/m ³ /an | 0,89 | 54,1 | 342,0 | 21,8 | 121,6 | 796,0 | 0,17 | -2,1 | -9,7 | -0,9 | 19,3 | -40,4 | 0,54 | 26,5 | 169,1 | 10,7 | 71,3 | 385,0 |
| Sable surface | g/m ³ /an | 0,03 | -0,4 | 11,7 | 0,8 | 2,9 | 32,9 | 0,05 | 0,9 | 13,9 | -2,3 | 5,5 | 38,3 | 0,04 | 0,2 | 12,7 | -0,7 | 4,2 | 35,6 |
| Rainclean | g/m ³ /an | 0,01 | 6,2 | 11,7 | 4,4 | 2,0 | 10,8 | 0,04 | 3,6 | 16,8 | 6,4 | 2,1 | 22,9 | 0,03 | 4,9 | 14,2 | 5,4 | 2,0 | 16,8 |
| Sable profond | g/m ³ /an | 0,00 | 1,4 | 2,8 | 2,3 | 4,9 | 6,6 | -0,004 | 1,6 | -0,1 | -1,0 | -5,0 | -2,2 | 0,00 | 1,5 | 1,4 | 0,7 | 0,0 | 2,3 |
| Amont | g/m ² /an | 0,02 | 1,5 | 9,7 | 1,3 | 3,1 | 22,2 | 0,05 | 1,8 | 12,3 | 0,2 | 4,5 | 28,1 | 0,03 | 1,6 | 9,9 | 0,7 | 3,5 | 22,8 |
| Centre | g/m ² /an | 0,01 | 1,4 | 2,2 | 1,1 | 1,3 | 6,0 | 0,01 | -0,6 | 3,9 | -0,2 | -0,4 | 4,1 | 0,01 | 1,0 | 3,7 | 1,1 | 0,8 | 6,3 |
| Aval | g/m ² /an | 0,00 | 1,7 | 5,3 | 1,5 | 1,1 | 4,7 | 0,01 | 2,4 | 5,7 | 2,8 | 0,7 | 9,6 | 0,01 | 1,7 | 5,0 | 1,7 | 0,8 | 6,2 |
| Somme FR | g/m ² /an | 0,01 | 1,6 | 5,1 | 1,3 | 1,7 | 9,3 | 0,02 | 1,4 | 7,3 | 1,1 | 1,6 | 14,0 | 0,02 | 1,5 | 6,2 | 1,2 | 1,7 | 11,6 |

Annexe 3-8 : Teneurs (mg/kg) en micropolluants organiques (hydrocarbures aromatiques polycycliques HAP et indices hydrocarbures HC) dans les différents échantillons selon les trois campagnes (T0, T1 et T2). Nap : Naphtalène ; Acyl : Acénaphtylène ; Acen : Acénaphène ; F : Fluorène ; A : Anthracène ; Phen : Phénanthrène ; Fluo : Fluoranthène ; Pyr : Pyrène ; BaA : Benzo(a)anthracène ; Chry : Chrysène ; BaP : Benzo(a)pyrène ; BbF : Benzo(b)fluoranthène ; BkF : Benzo(k)fluoranthène ; DahA : Dibenzo(a,h)anthracène ; Bper : Benzo(g,h,i)pérylène ; IP : Indeno(1,2,3-cd)pyrène. Sdt : sédiment ; Ss : sable surface ; Sm : sable profond ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond. Am : amont ; C : centre ; Av : aval.

| Filtre | Echantillon | Nap (mg/kg) | | | Acyl (mg/kg) | | | Acen (mg/kg) | | | F (mg/kg) | | | A (mg/kg) | | | Phen (mg/kg) | | | Fluo (mg/kg) | | | Pyr (mg/kg) | | | BaA (mg/kg) | | |
|--------------|---------------|-------------|----|-------|--------------|----|-------|--------------|----|-------|-----------|----|-------|-----------|----|-------|--------------|----|-------|--------------|----|-------|-------------|----|-------|-------------|----|----|
| | | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 |
| FS | Sdt-Am | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | |
| | Ss-Am | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | |
| | Ss-C | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | |
| | Ss-Av | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | |
| | Sp-Am | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | |
| | Sp-C | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | |
| | Sp-Av | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | |
| FR | Sdt-Am | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | 0,45 | | | 0,47 | | | 0,21 | | |
| | Ss-Am | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | |
| | Ss-C | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | |
| | Ss-Av | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | |
| | Rc-Am | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | |
| | Rc-C | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | |
| | Rc-Av | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | |
| | Sp-Am | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | |
| Sp-C | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | |
| Sp-Av | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | |

Annexe 3-8 (suite).

| Filtre | Echantillon | Chry (mg/kg) | | | BaP (mg/kg) | | | BbF (mg/kg) | | | BkF (mg/kg) | | | DahA (mg/kg) | | | BPer (mg/kg) | | | IP (mg/kg) | | | Somme 16 HAP (min-max) (mg/kg) | | |
|--------------|---------------|--------------|----|-------|-------------|----|-------|-------------|----|-------|-------------|----|-------|--------------|----|-------|--------------|----|-------|------------|----|-------------|--------------------------------|----|----|
| | | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 |
| FS | Sdt-Am | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | |
| | Ss-Am | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | |
| | Ss-C | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | |
| | Ss-Av | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | |
| | Sp-Am | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | |
| | Sp-C | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | |
| | Sp-Av | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | |
| FR | Sdt-Am | <0,05 | | | 0,2 | | | 0,39 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | 1,72-2,27 | | |
| | Ss-Am | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | |
| | Ss-C | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | |
| | Ss-Av | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | |
| | Rc-Am | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | |
| | Rc-C | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | |
| | Rc-Av | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | |
| | Sp-Am | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | |
| Sp-C | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | | |
| Sp-Av | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | <0,05 | | | < 0,8 - 0,8 | | | |

Annexe 3-8 (suite).

| Echantillon | HC C10-C40 (mg/kg) | | | HC C10-C11 (mg/kg) | | | HC C11-C12 (mg/kg) | | | HC C12-C16 (mg/kg) | | | HC C16-C21 (mg/kg) | | | HC C21-C35 (mg/kg) | | | HC C35-C40 (mg/kg) | | | | |
|------------------|-----------------------|-----|-----|-----------------------|----|----|-----------------------|----|----|-----------------------|-----|----|-----------------------|-----|----|-----------------------|-----|-----|-----------------------|-----|----|----|----|
| | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | | |
| FS-Sdt-Am | 87 | | | <10 | | | <10 | | | <10 | | | <10 | | | 74 | | | 14 | | | | |
| FS-Ss-Am | 280 | 140 | 340 | <10 | | | <10 | | | 11 | <10 | | 250 | <10 | | 14 | 19 | 93 | 260 | <10 | | 36 | 69 |
| FS-Ss-C | 310 | 55 | 110 | <10 | | | <10 | | | 10 | <10 | | 280 | <10 | | 20 | 39 | 79 | <10 | | 24 | | |
| FS-Ss-Av | 290 | 24 | 54 | <10 | | | <10 | | | <10 | | | 260 | <10 | | 17 | 20 | 37 | <10 | | 14 | | |
| FS-Sp-Am | 280 | <10 | 12 | <10 | | | <10 | | | 11 | <10 | | 250 | <10 | | 19 | <10 | | <10 | | | | |
| FS-Sp-C | 310 | <10 | <10 | <10 | | | <10 | | | 10 | <10 | | 280 | <10 | | 20 | <10 | | <10 | | | | |
| FS-Sp-Av | 290 | <10 | <10 | <10 | | | <10 | | | <10 | | | 260 | <10 | | 17 | <10 | | <10 | | | | |
| FR-Sdt-Am | 3400 | | | <10 | | | <10 | | | <10 | | | 160 | | | 2500 | | | 690 | | | | |
| FR-Ss-Am | 390 | 230 | 230 | <10 | | | <10 | | | 25 | <10 | | 350 | <10 | | 13 | 160 | 150 | <10 | | 54 | 74 | |
| FR-Ss-C | 260 | 86 | 140 | <10 | | | <10 | | | 19 | <10 | | 230 | <10 | | <10 | 56 | 87 | <10 | | 19 | 46 | |
| FR-Ss-Av | 190 | <10 | 79 | <10 | | | <10 | | | 15 | <10 | | 170 | <10 | | <10 | 49 | | <10 | | 27 | | |
| FR-Rc-Am | 1200 | 210 | 100 | <10 | | | <10 | | | 77 | <10 | | 1000 | <10 | | 55 | 150 | 64 | <10 | | 36 | | |
| FR-Rc-C | 1000 | 120 | 36 | <10 | | | <10 | | | 46 | <10 | | 920 | <10 | | 48 | 87 | 29 | <10 | | | | |
| FR-Rc-Av | 690 | 99 | 22 | <10 | | | <10 | | | 60 | <10 | | 590 | <10 | | 34 | 69 | 19 | <10 | | | | |
| FR-Sp-Am | 220 | <10 | <10 | <10 | | | <10 | | | 16 | <10 | | 200 | <10 | | <10 | | | <10 | | | | |
| FR-Sp-C | 220 | <10 | <10 | <10 | | | <10 | | | 16 | <10 | | 200 | <10 | | <10 | | | <10 | | | | |
| FR-Sp-Av | 220 | <10 | <10 | <10 | | | <10 | | | 16 | <10 | | 200 | <10 | | <10 | | | <10 | | | | |

Annexe 3-9 : Incertitudes associées aux teneurs en MPOs émergents mesurées au cours des trois campagnes (T0, T1, T2) dans les différents échantillons. Sdt : sédiment ; Ss : sable surface ; Sm : sable profond ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond. Am : amont ; C : centre ; Av : aval.

| Echantillon | BPA (µg/kg) | | | NP1EC (µg/kg) | | | 4-OP (µg/kg) | | | OP1EO (µg/kg) | | | OP2EO (µg/kg) | | | 4-NP (µg/kg) | | | NP2EO (µg/kg) | | | NP1EO (µg/kg) | | |
|------------------|-------------|-------|-------|---------------|----|----|----------------|----|----|----------------|----|----|---------------|----|----|------------------|----|----|----------------|----|----|---------------|----|----|
| | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 |
| FS-Sdt-Am | 0,00 | 91,2 | 101,8 | 28,4 | | | 15,2 46,7 | | | 4,01 6,63 | | | 1,03 0,29 | | | 544,1 746,6 | | | 1,98 5,15 | | | 1,39 0,75 | | |
| FS-Ss-Am | 0,72 | 0,12 | 1,04 | 0,25 | | | 0,48 3,37 1,50 | | | 0,53 0,58 1,26 | | | 1,50 | | | 10,29 14,9 128,9 | | | | | | 0,52 | | |
| FS-Ss-C | 0,97 | | 0,69 | | | | 2,06 | | | 0,75 | | | 0,80 0,74 | | | 4,39 0,73 16,5 | | | 1,01 0,34 | | | 1,51 | | |
| FS-Ss-Av | 0,47 | 0,27 | 0,10 | | | | 0,83 | | | 0,49 0,48 2,82 | | | 0,28 | | | 3,51 5,60 4,63 | | | 0,97 0,16 | | | 1,88 | | |
| FS-Sp-Am | 0,72 | | | | | | 0,48 | | | 0,53 | | | | | | 10,3 | | | | | | 0,52 | | |
| FS-Sp-C | 0,97 | 0,24 | | | | | 2,06 | | | 0,75 0,84 2,02 | | | 0,80 | | | 4,39 0,30 | | | 1,01 | | | 1,51 | | |
| FS-Sp-Av | 0,47 | | | | | | 0,83 | | | 0,49 5,53 | | | | | | 3,51 2,04 | | | | | | 0,82 | | |
| FR-Sdt-Am | | 105,9 | 85,6 | 1,18 2,67 | | | 47,1 34,7 | | | 3,38 1,80 | | | 6,17 0,54 | | | 592,1 1006,6 | | | 3,49 3,81 | | | 1,21 0,26 | | |
| FR-Ss-Am | 0,35 | 1,03 | 0,91 | | | | 1,29 4,19 0,84 | | | 0,42 | | | 0,62 1,32 | | | 5,98 24,5 97,1 | | | 0,38 0,15 | | | 0,57 | | |
| FR-Ss-C | 0,39 | 0,41 | 0,49 | | | | 1,53 1,48 0,46 | | | 1,20 0,69 1,07 | | | 0,32 | | | 11,3 3,58 52,3 | | | 0,23 1,00 | | | 1,48 | | |
| FR-Ss-Av | 0,20 | 0,19 | 0,17 | | | | 1,78 | | | 0,76 | | | 0,71 | | | 2,72 1,16 5,13 | | | 0,30 | | | 0,96 | | |
| FR-Rc-Am | 1,51 | | 0,79 | 0,67 | | | 7,31 2,25 0,36 | | | 5,47 5,32 | | | | | | 1,61 1,14 10,23 | | | 3,80 0,57 0,21 | | | 0,82 1,06 | | |
| FR-Rc-C | 1,26 | 0,75 | 0,54 | 0,44 | | | 3,20 1,40 0,46 | | | 3,16 4,81 | | | 0,53 | | | 1,42 0,47 7,08 | | | 0,53 0,71 | | | 0,48 2,40 | | |
| FR-Rc-Av | 0,58 | | 0,97 | | | | 6,15 0,29 | | | 4,07 2,45 | | | | | | 0,57 6,51 | | | 0,16 | | | 0,52 0,34 | | |
| FR-Sp-Am | 0,26 | 0,68 | | | | | 0,91 0,32 | | | 0,86 0,55 | | | | | | 2,91 | | | 0,40 0,50 | | | 1,00 | | |
| FR-Sp-C | 0,26 | 0,84 | | | | | 0,91 0,61 | | | 0,86 0,50 | | | | | | 2,91 2,52 4,56 | | | 0,40 0,47 0,11 | | | 1,00 0,74 | | |
| FR-Sp-Av | 0,26 | 0,84 | | | | | 0,91 0,61 0,32 | | | 0,86 0,50 | | | | | | 2,91 2,52 | | | 0,40 0,47 | | | 1,00 0,74 | | |

Annexe 3-10 : Bilan des teneurs volumiques (mg/m³) par échantillon, des teneurs volumiques des substrats et des masses surfaciques des zones (mg/m²), pour chaque campagne (T0, T1 et T2), filtre et MPO émergent (FS et FR). Les teneurs volumiques sont obtenues en sommant la masse de chaque échantillon appartenant à un même substrat (Sdt : sédiment ; Ss : sable surface ; Sm : sable profond ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond) puis en la divisant par le volume associé. Les masses surfaciques sont obtenues en sommant la masse chaque échantillon appartenant à une même zone (Am : amont ; C : centre ; Av : aval) puis en la divisant par la surface associée.

| Filtre FS | Unité | T0 | | | | | | | T1 | | | | | | | T2 | | | | | | |
|----------------------|-------------------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | | BPA | 4-OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2EO | NP1EO | BPA | 4-OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2EO | NP1EO | BPA | 4-OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2EO | NP1EO |
| Sdt-Am | mg/m ³ | | | | | | | | 313,6 | 64,9 | 9,2 | 3,7 | 1765,9 | 4,8 | 2,8 | 350,1 | 198,9 | 15,2 | 1,0 | 2423,4 | 12,6 | 4,7 |
| Ss-Am | mg/m ³ | 24,7 | 4,1 | 2,5 | 2,6 | 110,2 | 1,1 | 2,8 | 3,4 | 28,5 | 2,7 | 13,3 | 155,9 | 1,1 | 2,2 | 34,2 | 12,5 | 5,8 | 2,5 | 1328,9 | 1,1 | 2,2 |
| Ss-C | mg/m ³ | 33,2 | 17,9 | 3,6 | 7,3 | 47,1 | 11,8 | 8,2 | 3,0 | 2,5 | 2,2 | 2,5 | 7,7 | 1,1 | 2,2 | 22,7 | 2,5 | 17,0 | 6,5 | 170,3 | 3,8 | 2,2 |
| Ss-Av | mg/m ³ | 16,1 | 7,2 | 2,3 | 2,6 | 37,7 | 1,1 | 2,2 | 9,0 | 2,5 | 2,2 | 2,5 | 58,5 | 11,1 | 9,9 | 3,1 | 2,5 | 12,9 | 2,4 | 47,8 | 1,8 | 2,2 |
| Sm-Am | mg/m ³ | 24,7 | 4,1 | 2,5 | 2,6 | 110,2 | 1,1 | 2,8 | 2,7 | 2,3 | 2,0 | 2,3 | 2,4 | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 2,5 | 2,2 | 2,5 | 2,7 | 1,1 | 2,2 |
| Sm-C | mg/m ³ | 33,2 | 17,9 | 3,6 | 7,3 | 47,1 | 11,8 | 8,2 | 7,4 | 2,3 | 3,6 | 2,3 | 2,4 | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 2,5 | 9,4 | 2,5 | 3,1 | 1,1 | 2,2 |
| Sm-Av | mg/m ³ | 16,1 | 7,2 | 2,3 | 2,6 | 37,7 | 1,1 | 2,2 | 2,7 | 2,3 | 2,0 | 2,3 | 19,6 | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 2,5 | 25,8 | 2,5 | 2,7 | 1,1 | 4,4 |
| Sp-Am | mg/m ³ | 24,7 | 4,1 | 2,5 | 2,6 | 110,2 | 1,1 | 2,8 | 2,7 | 2,3 | 2,0 | 2,3 | 2,4 | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 2,5 | 2,2 | 2,5 | 2,7 | 1,1 | 2,2 |
| Sp-C | mg/m ³ | 33,2 | 17,9 | 3,6 | 7,3 | 47,1 | 11,8 | 8,2 | 7,4 | 2,3 | 3,6 | 2,3 | 2,4 | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 2,5 | 9,4 | 2,5 | 3,1 | 1,1 | 2,2 |
| Sp-Av | mg/m ³ | 16,1 | 7,2 | 2,3 | 2,6 | 37,7 | 1,1 | 2,2 | 2,7 | 2,3 | 2,0 | 2,3 | 19,6 | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 2,5 | 25,8 | 2,5 | 2,7 | 1,1 | 4,4 |
| Sédiment | mg/m ³ | | | | | | | | 313,6 | 64,9 | 9,2 | 3,7 | 1765,9 | 4,8 | 2,8 | 350,1 | 198,9 | 15,2 | 1,0 | 2423,4 | 12,6 | 4,7 |
| Sable surface | mg/m ³ | 25,5 | 11,8 | 2,9 | 4,8 | 53,2 | 6,2 | 5,1 | 4,5 | 9,2 | 2,3 | 5,3 | 57,8 | 3,4 | 4,0 | 22,5 | 6,7 | 11,2 | 3,8 | 625,8 | 2,2 | 2,2 |
| Sable moyen | mg/m ³ | 25,5 | 11,8 | 2,9 | 4,8 | 53,2 | 6,2 | 5,1 | 5,1 | 2,3 | 2,8 | 2,3 | 6,4 | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 2,5 | 10,6 | 2,5 | 2,8 | 1,1 | 2,8 |
| Sable profond | mg/m ³ | 25,5 | 11,8 | 2,9 | 4,8 | 53,2 | 6,2 | 5,1 | 5,1 | 2,3 | 2,8 | 2,3 | 6,4 | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 2,5 | 10,6 | 2,5 | 2,8 | 1,1 | 2,8 |
| Amont | mg/m ² | 9,9 | 1,7 | 1,0 | 1,0 | 44,1 | 0,4 | 1,1 | 5,3 | 4,4 | 1,0 | 2,1 | 39,8 | 0,5 | 0,9 | 13,1 | 7,0 | 1,6 | 1,0 | 194,2 | 0,8 | 1,0 |
| Centre | mg/m ² | 13,3 | 7,1 | 1,4 | 2,9 | 18,8 | 4,7 | 3,3 | 2,5 | 0,9 | 1,3 | 0,9 | 1,5 | 0,4 | 0,8 | 3,2 | 1,0 | 4,5 | 1,4 | 18,0 | 0,7 | 0,9 |
| Aval | mg/m ² | 6,4 | 2,9 | 0,9 | 1,0 | 15,1 | 0,4 | 0,9 | 1,7 | 0,9 | 0,8 | 0,9 | 11,7 | 1,4 | 1,6 | 1,2 | 1,0 | 9,0 | 1,0 | 5,6 | 0,5 | 1,5 |
| FS total | mg/m ² | 10,2 | 4,7 | 1,2 | 1,9 | 21,3 | 2,5 | 2,1 | 3,1 | 1,8 | 1,1 | 1,2 | 13,8 | 0,7 | 1,0 | 6,8 | 3,5 | 4,5 | 1,1 | 88,8 | 0,7 | 1,1 |

Annexe 3-10 (suite).

| Filtre FR | Unité | T0 | | | | | | | T1 | | | | | | | T2 | | | | | | |
|----------------------|-------------------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | | BPA | 4-OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2EO | NP1EO | BPA | 4-OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2EO | NP1EO | BPA | 4-OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2EO | NP1EO |
| Sdt-Am | mg/m ³ | | | | | | | | 376,8 | 207,5 | 8,0 | 23,1 | 1988,2 | 8,8 | 7,8 | 304,7 | 142,4 | 4,3 | 2,0 | 3947,0 | 9,6 | 1,7 |
| Ss-Am | mg/m ³ | 11,7 | 10,9 | 2,2 | 5,5 | 62,5 | 1,1 | 2,2 | 32,4 | 33,4 | 4,0 | 11,0 | 241,2 | 4,1 | 2,8 | 28,5 | 6,7 | 2,3 | 2,4 | 957,3 | 1,6 | 2,1 |
| Ss-C | mg/m ³ | 12,8 | 13,0 | 5,5 | 2,8 | 118,4 | 2,7 | 7,8 | 13,0 | 11,8 | 3,0 | 2,4 | 35,2 | 10,8 | 2,1 | 15,5 | 3,7 | 4,7 | 2,4 | 515,6 | 1,0 | 2,1 |
| Ss-Av | mg/m ³ | 6,7 | 15,0 | 3,5 | 6,3 | 28,4 | 1,1 | 2,2 | 6,1 | 2,4 | 2,1 | 2,4 | 11,4 | 1,0 | 2,1 | 5,5 | 2,4 | 2,1 | 2,4 | 50,6 | 3,2 | 4,7 |
| Rc-Am | mg/m ³ | 5,7 | 21,9 | 3,4 | 0,7 | 14,4 | 10,8 | 1,6 | 1,0 | 8,0 | 4,0 | 0,9 | 12,2 | 2,0 | 2,5 | 3,7 | 1,4 | 0,8 | 0,9 | 114,2 | 0,9 | 0,8 |
| Rc-C | mg/m ³ | 4,8 | 9,6 | 2,0 | 1,9 | 12,7 | 1,5 | 0,9 | 3,4 | 5,0 | 3,6 | 0,9 | 5,0 | 2,4 | 5,6 | 2,5 | 1,7 | 0,8 | 0,9 | 79,0 | 0,4 | 0,8 |
| Rc-Av | mg/m ³ | 2,2 | 18,4 | 2,5 | 0,7 | 5,0 | 0,5 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,8 | 0,9 | 0,9 | 0,4 | 0,8 | 4,6 | 0,9 | 0,8 | 0,9 | 72,7 | 0,4 | 0,8 |
| Sp-Am | mg/m ³ | 8,8 | 7,9 | 4,1 | 2,6 | 31,2 | 4,7 | 5,4 | 20,8 | 2,5 | 2,3 | 2,3 | 2,4 | 5,3 | 2,0 | 3,0 | 2,5 | 2,2 | 2,5 | 2,7 | 1,1 | 2,2 |
| Sp-C | mg/m ³ | 8,8 | 7,9 | 4,1 | 2,6 | 31,2 | 4,7 | 5,4 | 25,7 | 4,8 | 2,1 | 2,3 | 24,2 | 4,9 | 3,6 | 3,0 | 2,5 | 2,2 | 2,5 | 48,1 | 1,2 | 2,2 |
| Sp-Av | mg/m ³ | 8,8 | 7,9 | 4,1 | 2,6 | 31,2 | 4,7 | 5,4 | 25,7 | 4,8 | 2,1 | 2,3 | 24,2 | 4,9 | 3,6 | 3,0 | 2,7 | 2,2 | 2,5 | 2,7 | 1,1 | 2,2 |
| Sédiment | mg/m ³ | | | | | | | | 376,8 | 207,5 | 8,0 | 23,1 | 1988,2 | 8,8 | 7,8 | 304,7 | 142,4 | 4,3 | 2,0 | 3947,0 | 9,6 | 1,7 |
| Sable surface | mg/m ³ | 9,8 | 13,6 | 4,1 | 4,8 | 68,8 | 1,7 | 4,4 | 14,9 | 13,3 | 2,9 | 4,4 | 74,5 | 5,5 | 2,2 | 15,7 | 4,1 | 2,9 | 2,4 | 473,8 | 2,1 | 3,1 |
| Rainclean | mg/m ³ | 3,7 | 15,4 | 2,4 | 1,2 | 9,4 | 2,3 | 1,1 | 2,0 | 4,2 | 3,0 | 0,9 | 5,2 | 1,5 | 3,1 | 3,7 | 1,3 | 0,8 | 0,9 | 87,9 | 0,6 | 0,8 |
| Sable profond | mg/m ³ | 8,8 | 7,9 | 4,1 | 2,6 | 31,2 | 4,7 | 5,4 | 24,6 | 4,2 | 2,2 | 2,3 | 19,1 | 5,0 | 3,2 | 3,0 | 2,6 | 2,2 | 2,5 | 15,4 | 1,1 | 2,2 |
| Amont | mg/m ² | 3,2 | 6,2 | 1,3 | 0,9 | 12,2 | 2,7 | 1,1 | 11,9 | 8,7 | 1,6 | 1,9 | 60,5 | 1,5 | 1,1 | 14,8 | 6,3 | 0,8 | 0,7 | 260,6 | 0,8 | 0,6 |
| Centre | mg/m ² | 3,1 | 4,0 | 1,4 | 0,9 | 17,5 | 1,0 | 1,5 | 4,5 | 2,7 | 1,2 | 0,6 | 6,9 | 2,1 | 1,7 | 2,4 | 1,0 | 0,8 | 0,7 | 72,2 | 0,3 | 0,6 |
| Aval | mg/m ² | 2,0 | 6,0 | 1,3 | 1,0 | 7,0 | 0,7 | 1,0 | 3,4 | 0,9 | 0,8 | 0,6 | 3,7 | 0,7 | 0,7 | 1,8 | 0,7 | 0,6 | 0,7 | 19,9 | 0,5 | 0,9 |
| Somme FR | mg/m ² | 2,6 | 5,2 | 1,3 | 1,0 | 11,9 | 1,1 | 1,2 | 5,8 | 3,4 | 1,1 | 0,9 | 18,3 | 1,4 | 1,2 | 6,2 | 2,6 | 0,7 | 0,7 | 112,3 | 0,5 | 0,7 |

Annexe 3-11 : Facteurs d'enrichissements en MPO émergents calculés entre T2 et T0 dans les différents échantillons. En vert les facteurs supérieurs à 1, en jaune ceux inférieurs à 1.

| FS | Facteur d'enrichissement entre T0 et T2 | | | | | | | FR | Facteur d'enrichissement entre T0 et T2 | | | | | | |
|--------------|---|------|-------|-------|------|-------|-------|--------------|---|------|-------|-------|------|-------|-------|
| | BPA | 4-OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2EO | NP1EO | | BPA | 4-OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2EO | NP1EO |
| Ss-Am | 1,4 | 3,0 | 2,3 | 1,0 | 12,1 | 1,0 | 0,8 | Ss-Am | 2,4 | 0,6 | 1,1 | 0,4 | 15,3 | 1,5 | 0,9 |
| Ss-C | 0,7 | 0,1 | 4,8 | 0,9 | 3,6 | 0,3 | 0,3 | Ss-C | 1,2 | 0,3 | 0,8 | 0,8 | 4,4 | 0,4 | 0,3 |
| Ss-Av | 0,2 | 0,3 | 5,6 | 1,0 | 1,3 | 1,6 | 1,0 | Ss-Av | 0,8 | 0,2 | 0,6 | 0,4 | 1,8 | 2,9 | 2,2 |
| Sm-Am | 0,1 | 0,6 | 0,9 | 1,0 | 0,02 | 1,0 | 0,8 | Rc-Am | 0,7 | 0,1 | 0,2 | 1,3 | 7,9 | 0,1 | 0,5 |
| Sm-C | 0,1 | 0,1 | 2,6 | 0,3 | 0,1 | 0,1 | 0,3 | Rc-C | 0,5 | 0,2 | 0,4 | 0,5 | 6,2 | 0,3 | 0,9 |
| Sm-Av | 0,2 | 0,4 | 11,2 | 1,0 | 0,1 | 1,0 | 1,9 | Rc-Av | 2,1 | 0,1 | 0,3 | 1,3 | 14,4 | 0,9 | 0,8 |
| Sp-Am | 0,1 | 0,6 | 0,9 | 1,0 | 0,02 | 1,0 | 0,8 | Sp-Am | 0,3 | 0,3 | 0,5 | 1,0 | 0,1 | 0,2 | 0,4 |
| Sp-C | 0,1 | 0,1 | 2,6 | 0,3 | 0,1 | 0,1 | 0,3 | Sp-C | 0,3 | 0,3 | 0,5 | 1,0 | 1,5 | 0,3 | 0,4 |
| Sp-Av | 0,2 | 0,4 | 11,2 | 1,0 | 0,1 | 1,0 | 1,9 | Sp-Av | 0,3 | 0,3 | 0,5 | 1,0 | 0,1 | 0,2 | 0,4 |

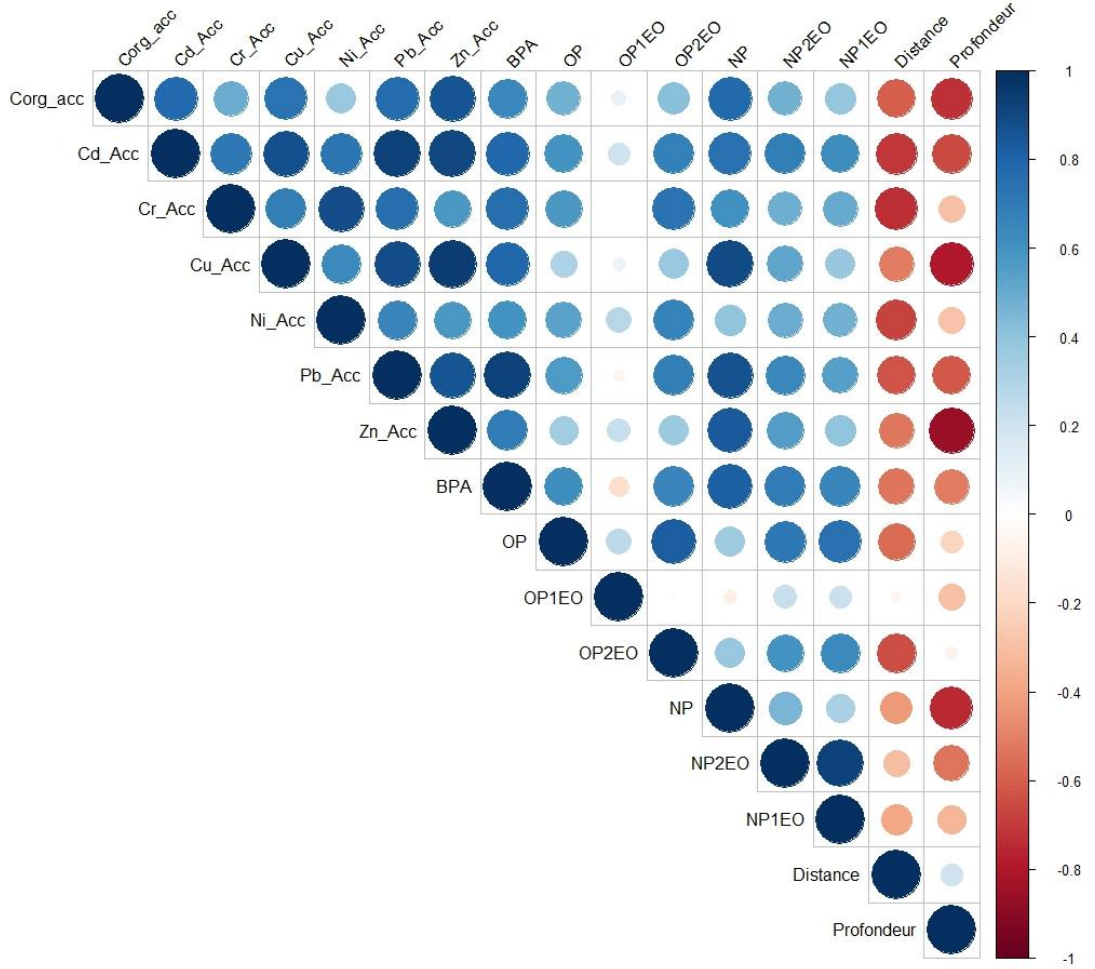
Annexe 3-12 : Bilan de l'accumulation en MPOs émergents entre les différentes campagnes (entre T0 et T1, entre T1 et T2 et entre T0 et T2) dans les différents échantillons (accumulation volumique, g/m³/an), puis en regroupant les différents substrats (g/m³/an), les différentes zones (accumulation surfacique g/m²) de chaque filtre et en regroupant l'ensemble de chaque filtre (g/m²/an). Sdt : sédiment ; Ss : sable surface ; Sm : sable profond ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond ; Am : amont ; C : centre ; Av : aval.

| Filtre FS | Unité | Accumulation entre T0 et T1 | | | | | | | Accumulation entre T1 et T2 | | | | | | | Accumulation entre T0 et T2 | | | | | | |
|----------------------|-----------------------|-----------------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-----------------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-----------------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | | BPA | 4-OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2EO | NP1EO | BPA | 4-OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2EO | NP1EO | BPA | 4-OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2EO | NP1EO |
| Sdt-Am | mg/m ³ /an | 285,4 | 59,1 | 8,4 | 3,4 | 1607,4 | 4,4 | 2,6 | 34,6 | 127,1 | 5,7 | -2,6 | 623,3 | 7,3 | 1,7 | 162,6 | 92,4 | 7,1 | 0,5 | 1125,4 | 5,8 | 2,2 |
| Ss-Am | mg/m ³ /an | -10,1 | 23,7 | 1,1 | 10,7 | 82,9 | 0,4 | 0,5 | 30,5 | -4,8 | 3,9 | -5,4 | 1168,7 | 0,4 | 0,8 | 11,7 | 5,1 | 2,3 | 0,7 | 598,6 | 0,3 | 0,5 |
| Ss-C | mg/m ³ /an | -25,4 | -12,9 | -1,0 | -3,9 | -32,9 | -9,0 | -4,9 | 1,2 | 1,1 | 0,9 | 1,1 | 1,1 | 0,5 | 0,9 | -12,1 | -11,1 | 5,5 | -2,0 | 47,0 | -6,3 | -4,6 |
| Ss-Av | mg/m ³ /an | -15,6 | -8,3 | -1,4 | -1,5 | -2,2 | 8,5 | 5,7 | 17,1 | -1,4 | 12,9 | 2,4 | 150,0 | 2,0 | -1,2 | -9,4 | -3,7 | 4,4 | -0,6 | -3,2 | 0,1 | -0,5 |
| Sm-Am | mg/m ³ /an | -10,7 | -0,1 | 0,5 | 0,7 | -56,7 | 0,3 | 0,3 | -8,2 | -1,0 | 3,6 | -1,0 | -0,7 | -0,5 | -0,9 | -2,8 | 0,5 | 0,6 | 0,7 | -17,3 | 0,3 | 0,6 |
| Sm-C | mg/m ³ /an | -21,4 | -13,1 | 0,2 | -4,1 | -37,7 | -9,1 | -5,1 | -4,7 | 0,2 | 10,3 | 0,2 | -4,5 | -7,7 | -6,3 | -21,3 | -11,0 | 1,9 | -3,8 | -30,7 | -7,6 | -4,5 |
| Sm-Av | mg/m ³ /an | -21,2 | -8,5 | -1,6 | -1,7 | -37,6 | -0,7 | -1,5 | 0,5 | 0,4 | 22,8 | 0,4 | -14,1 | 0,2 | 2,4 | -9,5 | -3,7 | 10,4 | -0,6 | -24,1 | -0,2 | 0,5 |
| Sp-Am | mg/m ³ /an | -10,7 | -0,1 | 0,5 | 0,7 | -56,7 | 0,3 | 0,3 | -8,2 | -1,0 | 3,6 | -1,0 | -0,7 | -0,5 | -0,9 | -2,8 | 0,5 | 0,6 | 0,7 | -17,3 | 0,3 | 0,6 |
| Sp-C | mg/m ³ /an | -21,4 | -13,1 | 0,2 | -4,1 | -37,7 | -9,1 | -5,1 | -4,7 | 0,2 | 10,3 | 0,2 | -4,5 | -7,7 | -6,3 | -21,3 | -11,0 | 1,9 | -3,8 | -30,7 | -7,6 | -4,5 |
| Sp-Av | mg/m ³ /an | -21,2 | -8,5 | -1,6 | -1,7 | -37,6 | -0,7 | -1,5 | 0,5 | 0,4 | 22,8 | 0,4 | -14,1 | 0,2 | 2,4 | -9,5 | -3,7 | 10,4 | -0,6 | -24,1 | -0,2 | 0,5 |
| Sédiment | mg/m ³ /an | 285,4 | 59,1 | 8,4 | 3,4 | 1607,4 | 4,4 | 2,6 | 34,6 | 127,1 | 5,7 | -2,6 | 623,3 | 7,3 | 1,7 | 162,6 | 92,4 | 7,1 | 0,5 | 1125,4 | 5,8 | 2,2 |
| Sable surface | mg/m ³ /an | -19,2 | -2,3 | -0,6 | 0,4 | 4,2 | -2,6 | -1,1 | 17,1 | -2,4 | 8,4 | -1,5 | 538,5 | -1,2 | -1,7 | -1,4 | -2,4 | 3,8 | -0,5 | 265,9 | -1,9 | -1,4 |
| Sable moyen | mg/m ³ /an | -18,6 | -8,7 | -0,1 | -2,3 | -42,6 | -4,7 | -2,9 | -2,0 | 0,2 | 7,4 | 0,2 | -3,4 | 0,1 | 0,7 | -10,5 | -4,3 | 3,6 | -1,1 | -23,4 | -2,4 | -1,1 |
| Sable profond | mg/m ³ /an | -18,6 | -8,7 | -0,1 | -2,3 | -42,6 | -4,7 | -2,9 | -2,0 | 0,2 | 7,4 | 0,2 | -3,4 | 0,1 | 0,7 | -10,5 | -4,3 | 3,6 | -1,1 | -23,4 | -2,4 | -1,1 |
| Amont | mg/m ² /an | -5,4 | 0,4 | -0,2 | 0,2 | 5,6 | -1,6 | -1,0 | 8,4 | 3,7 | 0,5 | -0,6 | 160,3 | 0,3 | 0,1 | 0,5 | 0,8 | 0,2 | -0,6 | 77,2 | -1,1 | -0,7 |
| Centre | mg/m ² /an | -8,1 | -4,6 | 0,0 | -1,3 | -14,8 | -2,8 | -1,6 | 0,3 | -0,1 | 2,9 | 0,3 | 14,6 | 0,1 | -0,1 | -3,6 | -2,1 | 1,5 | -0,4 | 0,2 | -1,2 | -0,7 |
| Aval | mg/m ² /an | -4,3 | -1,8 | -0,1 | -0,1 | -3,0 | 0,9 | 0,6 | -0,1 | 0,2 | 7,9 | 0,2 | -3,5 | -0,6 | 0,2 | -2,4 | -0,9 | 3,8 | 0,0 | -4,4 | 0,0 | 0,3 |
| FS total | mg/m ² /an | -6,5 | -2,6 | -0,1 | -0,6 | -6,8 | -1,7 | -1,0 | 3,6 | 1,6 | 3,2 | -0,1 | 71,2 | 0,0 | 0,1 | -1,6 | -0,6 | 1,5 | -0,4 | 31,4 | -0,8 | -0,4 |

Annexe 3-12 (suite).

| FR | Unité | Accumulation entre T0 et T1 | | | | | | | Accumulation entre T1 et T2 | | | | | | | Accumulation entre T0 et T2 | | | | | | |
|----------------------|-----------------------|-----------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|-----------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|-----------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|
| | | BPA | 4-OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2 EO | NP1 EO | BPA | 4-OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2 EO | NP1 EO | BPA | 4-OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2 EO | NP1 EO |
| Sdt-Am | mg/m ³ /an | 357,3 | 196,7 | 7,6 | 21,9 | 1884,9 | 8,3 | 7,4 | -70,8 | -63,8 | -3,7 | -20,7 | 1921,9 | 0,8 | -6,1 | 146,9 | 68,7 | 2,1 | 1,0 | 1903,1 | 4,6 | 0,8 |
| Ss-Am | mg/m ³ /an | 24,2 | 25,6 | 2,6 | 7,4 | 193,8 | 3,2 | 1,5 | 4,9 | -17,2 | -0,6 | -5,5 | 767,5 | -1,3 | 0,0 | 11,3 | 1,0 | 0,7 | 0,0 | 448,7 | 0,6 | 0,5 |
| Ss-C | mg/m ³ /an | -0,1 | -1,3 | -2,5 | -0,5 | -80,8 | 7,6 | -5,5 | 2,9 | -4,4 | -2,0 | 0,3 | 103,4 | -0,5 | -1,0 | -1,3 | -7,1 | -1,5 | -0,8 | 167,8 | -1,3 | -4,3 |
| Ss-Av | mg/m ³ /an | -2,1 | -15,4 | -2,2 | -5,1 | -22,6 | -0,3 | -0,6 | -11,9 | 0,7 | 0,5 | 0,8 | 0,9 | -2,7 | 0,7 | -1,2 | -7,4 | -1,0 | -2,4 | 8,3 | 0,9 | 1,1 |
| Rc-Am | mg/m ³ /an | -2,2 | -4,6 | 1,9 | 0,4 | 3,5 | -4,2 | 1,5 | -2,5 | -12,5 | 0,5 | -0,9 | 457,8 | -13,7 | -0,8 | 0,6 | -3,8 | -0,3 | 0,3 | 52,1 | -1,8 | 0,1 |
| Rc-C | mg/m ³ /an | -1,4 | -4,5 | 1,5 | -1,0 | -7,5 | 0,8 | 4,4 | -2,1 | -5,1 | -4,1 | -0,3 | 70,7 | -2,9 | -6,8 | -2,0 | -5,7 | -1,0 | -0,8 | 29,4 | -0,8 | -0,3 |
| Rc-Av | mg/m ³ /an | -1,6 | -20,6 | -1,3 | 0,0 | -5,0 | -0,2 | -0,4 | -32,1 | -4,0 | -0,7 | -0,7 | 14,2 | -5,5 | -2,7 | 1,0 | -10,0 | -1,0 | 0,0 | 32,2 | -0,1 | -0,2 |
| Sp-Am | mg/m ³ /an | 14,9 | -2,0 | -0,1 | 0,8 | -15,0 | 2,4 | -1,1 | -0,3 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 39,1 | 2,2 | 2,7 | -0,4 | -0,4 | 0,2 | 0,7 | -5,1 | -0,4 | 0,0 |
| Sp-C | mg/m ³ /an | 15,9 | -3,1 | -1,9 | -0,3 | -7,1 | 0,2 | -1,8 | 3,5 | 0,0 | -0,9 | 0,1 | 70,4 | 0,0 | 0,0 | -4,6 | -4,2 | -1,7 | -0,5 | 1,9 | -2,6 | -2,6 |
| Sp-Av | mg/m ³ /an | 14,0 | -4,8 | -2,8 | -0,8 | -13,7 | -0,8 | -2,9 | -20,9 | -1,8 | 0,2 | 0,3 | -19,8 | -3,5 | -1,2 | -3,5 | -3,2 | -1,3 | -0,2 | -16,3 | -2,1 | -2,0 |
| Sédiment | mg/m ³ /an | 357,3 | 196,7 | 7,6 | 21,9 | 1884,9 | 8,3 | 7,4 | -70,8 | -63,8 | -3,7 | -20,7 | 1921,9 | 0,8 | -6,1 | 146,9 | 68,7 | 2,1 | 1,0 | 1903,1 | 4,6 | 0,8 |
| Sable surface | mg/m ³ /an | 4,8 | -0,3 | -1,2 | -0,4 | 5,5 | 3,6 | -2,0 | 0,8 | -9,0 | 0,0 | -2,0 | 391,7 | -3,4 | 0,9 | 2,8 | -4,6 | -0,6 | -1,2 | 195,3 | 0,2 | -0,6 |
| Rainclean | mg/m ³ /an | -1,6 | -10,6 | 0,5 | -0,3 | -4,0 | -0,7 | 1,9 | 1,7 | -2,9 | -2,2 | 0,0 | 81,1 | -1,0 | -2,2 | 0,0 | -6,8 | -0,8 | -0,1 | 37,8 | -0,8 | -0,1 |
| Sable profond | mg/m ³ /an | 14,9 | -3,5 | -1,8 | -0,3 | -11,4 | 0,3 | -2,1 | -21,2 | -1,6 | 0,0 | 0,2 | -3,6 | -3,8 | -1,0 | -2,8 | -2,5 | -0,9 | 0,0 | -7,6 | -1,7 | -1,5 |
| Amont | mg/m ² /an | 8,3 | 3,2 | 0,2 | 0,9 | 43,7 | -0,5 | -0,1 | 4,9 | -0,7 | -0,7 | -0,8 | 210,7 | -0,8 | -0,6 | 5,6 | 0,7 | -0,3 | -0,1 | 118,3 | -0,5 | -0,3 |
| Centre | mg/m ² /an | 1,6 | -1,7 | -0,1 | -0,3 | -7,7 | 1,0 | 0,3 | -2,7 | -1,9 | -0,5 | -0,1 | 63,2 | -1,9 | -1,3 | -0,2 | -1,7 | -0,2 | -0,1 | 27,6 | -0,3 | -0,4 |
| Aval | mg/m ² /an | 1,3 | -4,8 | -0,5 | -0,4 | -3,1 | 0,0 | -0,2 | -1,2 | -0,1 | -0,1 | 0,1 | 16,2 | -0,1 | 0,2 | -0,1 | -2,5 | -0,3 | -0,2 | 6,2 | -0,1 | 0,0 |
| Somme FR | mg/m ² /an | 3,1 | -1,7 | -0,2 | 0,0 | 6,1 | 0,3 | 0,0 | 0,3 | -0,8 | -0,4 | -0,2 | 92,2 | -0,8 | -0,5 | 1,7 | -1,3 | -0,3 | -0,1 | 48,4 | -0,3 | -0,2 |

Annexe 3-13: Matrice de corrélation de Spearman (n = 20) obtenus entre le carbone organique accumulé (Acc), la distance depuis la zone d'alimentation, la profondeur et les différents micropolluants accumulés entre T0 et T2 (g/m³/an).



Annexe 3-14 : Accumulation volumique (mg/m³/an) du carbone organique dans les différents échantillons, calculée entre T0 et T2.

| Echantillon | Carbone organique accumulé (mg/m³/an) | |
|--------------------|---|---------------|
| FS | Sdt-Am | 40,0 |
| | Ss-Am | 19,1 |
| | Ss-C | 3,7 |
| | Ss-Av | 2,3 |
| | Sm-Am | 1,0 |
| | Sm-C | -0,3 |
| | Sm-Av | -0,3 |
| | Sp-Am | 1,0 |
| | Sp-C | -0,3 |
| | Sp-Av | -0,3 |
| | FR | Sdt-Am |
| Ss-Am | | 8,1 |
| Ss-C | | 5,2 |
| Ss-Av | | 3,2 |
| Rc-Am | | 4,5 |
| Rc-C | | -0,8 |
| Rc-Av | | -0,3 |
| Sp-Am | | 1,2 |
| Sp-C | | 0,5 |
| Sp-Av | | 0,6 |

Annexe 3-15 : Méthode d'extrapolation du stock d'ETM dans les substrats selon les seuils d'intervention minimum et maximum synthétisés selon les Pays. Les substrats sont regroupés par zone (amont, centre, aval). Le calcul est détaillé, puis les tableaux de calculs sont fournis pour estimer le temps nécessaire avant le dépassement des seuils (A), et pour estimer le seuil à ne pas dépasser en termes de stock (B). Pour le tableau du manuscrit, les deux sables de surface ont été regroupés, en gardant le résultat le plus faible (temps le plus court), puisque si un FPR doit être géré, les deux seront gérés en même temps. Lorsque la vitesse d'accumulation était négative, ce calcul ne pouvait pas être réalisé.

Formule utilisée :

$$\text{Temps}_{\text{avant dépassement}} = \frac{\text{Stock seuil (g)} - \text{Stock initial (g)}}{\text{Stock accumulé par an } \left(\frac{\text{g}}{\text{an}}\right)}$$

| A | | Stock initial (g) | | | | | | Stock accumulée (g/an) | | | | | | Temps pour arriver au seuil min-seuil max | | | | | |
|----|-------|-------------------|-------|--------|-------|-------|--------|------------------------|------|------|------|-----|------|---|----------|-----------|---------|----------|---------|
| | | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
| FS | Ss-Am | 0,6 | 127,6 | 54,4 | 160,5 | 83,9 | 215,2 | 3,2 | 312 | 1334 | 161 | 410 | 3398 | 11 - 361 | 11 - 48 | 3 - 6 | 10 - 53 | 5 - 49 | 3 - 6 |
| | Ss-C | 2,0 | 434,7 | 168,4 | 496,8 | 285,6 | 662,0 | -0,6 | -111 | 23 | -168 | -51 | -44 | - | - | 109 - 305 | - | - | - |
| | Ss-Av | 1,5 | 383,8 | 119,4 | 427,7 | 205,7 | 525,5 | 0,5 | 34 | 119 | 78 | -46 | 338 | 37 - 2602 | 53 - 538 | 17 - 86 | 8 - 132 | - | 18 - 75 |
| FR | Ss-Am | 0,5 | 78,3 | 32,0 | 95,7 | 55,5 | 143,1 | 2,0 | 150 | 476 | 91 | 246 | 1402 | 18 - 594 | 23 - 100 | 7 - 18 | 18 - 94 | 9 - 82 | 8 - 15 |
| | Ss-C | 1,4 | 548,5 | 129,0 | 559,8 | 220,1 | 620,3 | 0,2 | -131 | 135 | -206 | 26 | 285 | 166 - 6464 | - | 19 - 53 | - | 57 - 664 | 28 - 62 |
| | Ss-Av | 1,5 | 387,5 | 138,9 | 448,3 | 207,3 | 550,4 | 0,7 | 34 | 235 | -26 | 64 | 653 | 29 - 2035 | 53 - 541 | 9 - 43 | - | 18 - 387 | 10 - 39 |
| FR | Rc-Am | 0,8 | 204,1 | 264,4 | 372,7 | 69,6 | 633,2 | 2,7 | 278 | 713 | 310 | 106 | 1416 | 6 - 336 | 6 - 42 | 2 - 9 | 2 - 21 | 10 - 149 | 4 - 11 |
| | Rc-C | 2,6 | 641,5 | 926,6 | 828,6 | 221,2 | 1933,4 | 0,3 | -266 | 310 | -104 | -63 | -166 | 48 - 2885 | - | 2 - 15 | - | - | - |
| | Rc-Av | 3,3 | 627,3 | 1241,6 | 779,0 | 237,9 | 2036,3 | 2,3 | 427 | 1028 | 578 | 208 | 1544 | 8 - 492 | 4 - 32 | 1 - 7 | 1 - 13 | 6 - 93 | 3 - 12 |

Annexe 3-15 (Suite)

| B | | Teneur (mg/kg) | | | | | | Masse volumique (kg/m3) | Volume (m3) | Stock seuil (g) | | | | | |
|--------------|-------|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-------------------------------|----------------|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | | | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
| Seuil min | Ss-Am | 0,8 | 80 | 80 | 40 | 50 | 250 | 1543 | 28,7 | 35 | 3543 | 3543 | 1772 | 2215 | 11073 |
| | Ss-C | 0,8 | 80 | 80 | 40 | 50 | 250 | 1543 | 22,1 | 27 | 2728 | 2728 | 1364 | 1705 | 8526 |
| | Ss-Av | 0,8 | 80 | 80 | 40 | 50 | 250 | 1543 | 17,5 | 22 | 2161 | 2161 | 1080 | 1350 | 6752 |
| Seuil max | Ss-Am | 40 | 520 | 290 | 300 | 700 | 720 | 1475 | 19,7 | 1162 | 15112 | 8428 | 8719 | 20343 | 20925 |
| | Ss-C | 40 | 520 | 290 | 300 | 700 | 720 | 1475 | 17,1 | 1009 | 13118 | 7316 | 7568 | 17658 | 18163 |
| | Ss-Av | 40 | 520 | 290 | 300 | 700 | 720 | 1475 | 24,2 | 1428 | 18564 | 10353 | 10710 | 24990 | 25704 |
| Seuil min | Rc-Am | 0,8 | 80 | 80 | 40 | 50 | 250 | 576 | 39,4 | 18 | 1815 | 1815 | 907 | 1134 | 5671 |
| | Rc-C | 0,8 | 80 | 80 | 40 | 50 | 250 | 576 | 34,2 | 16 | 1575 | 1575 | 788 | 984 | 4922 |
| | Rc-Av | 0,8 | 80 | 80 | 40 | 50 | 250 | 576 | 48,4 | 22 | 2229 | 2229 | 1115 | 1393 | 6966 |
| Seuil max | Ss-Am | 40 | 520 | 290 | 300 | 700 | 720 | 576 | 39,4 | 907 | 11795 | 6578 | 6805 | 15878 | 16332 |
| | Ss-C | 40 | 520 | 290 | 300 | 700 | 720 | 576 | 34,2 | 788 | 10239 | 5710 | 5907 | 13783 | 14176 |
| | Ss-Av | 40 | 520 | 290 | 300 | 700 | 720 | 576 | 48,4 | 1115 | 14490 | 8081 | 8359 | 19505 | 20063 |

Annexe 3-16 : Teneurs moyennes en ETM (mg/kg) avec les écarts-types associés dans les parties aériennes de *P. australis* à différentes zones (Am : amont ; Ce : centre ; Av : aval) des deux filtre (FS et FR). Les écart-types ont été calculé à partir de trois répétitions par échantillon.

| Echantillon | Teneur (mg/kg sec) | | | | | |
|--------------|--------------------|--------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
| FS-Am | < 0,025 | 0,38 (0,15) | 5,48 (0,3) | 0,44 (0,10) | 0,62 (0,20) | 82,7 (5,6) |
| FS-Ce | 0,03 (0,00) | 0,57 (0,26) | 7,23 (2,0) | 0,55 (0,16) | 1,35 (0,55) | 49,6 (7,2) |
| FS-Av | < 0,025 | < 0,25 | 3,22 (0,4) | 0,26 (0,01) | 0,40 (0,08) | 25,3 (3,7) |
| FR-Am | < 0,025 | 0,35 (0,005) | 5,08 (0,6) | 0,59 (0,01) | 0,67 (0,02) | 71,4 (23,5) |
| FR-Ce | < 0,025 | 0,63 (0,53) | 3,21 (0,3) | 0,50 (0,26) | 0,51 (0,10) | 32,3 (3,8) |
| FR-Av | < 0,025 | 0,30 (0,04) | 3,58 (0,2) | 0,41 (0,07) | 0,59 (0,16) | 33,8 (0,7) |

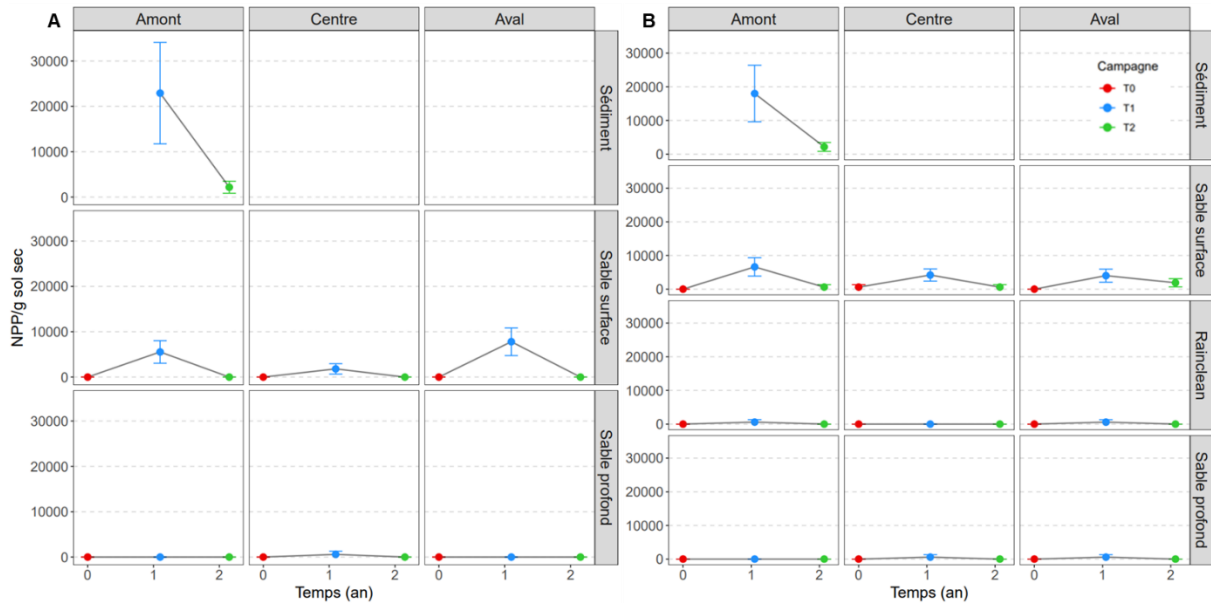
Annexe 3-17 : Teneurs en MPOs (mg/kg) dans les parties aériennes de *P. australis* à différentes zones (Am : amont ; Ce : centre ; Av : aval) des deux filtre (FS et FR). Les écart-types ont été calculé à partir de trois répétitions par échantillon. Le BPA, les AP et les HAP sont représentés.

| Echantillon | Teneur (mg/kg sec) | | | | | | | | |
|--------------|--------------------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------------|
| | BPA | NP1EC | OP | OP1EO | OP2EO | 4-NP | NP2EO | NP1EO | Chaque HAP |
| FS-Am | 0,004 | < 0,001 | 0,061 | 0,017 | 0,002 | 0,358 | 0,021 | 0,020 | < 0,1 |
| FS-Ce | < 0,002 | < 0,001 | 0,056 | 0,010 | 0,002 | 0,277 | 0,002 | 0,031 | < 0,1 |
| FS-Av | < 0,0200 | < 0,001 | 0,041 | 0,009 | 0,003 | 0,206 | 0,003 | 0,016 | < 0,1 |
| FR-Am | < 0,002 | < 0,001 | 0,033 | 0,056 | 0,011 | 0,223 | 0,030 | 0,019 | < 0,1 |
| FR-Ce | < 0,002 | < 0,001 | 0,069 | 0,013 | 0,003 | 0,071 | 0,002 | 0,013 | < 0,1 |
| FR-Av | < 0,002 | < 0,001 | 0,020 | 0,070 | 0,008 | 0,193 | 0,007 | 0,027 | < 0,1 |

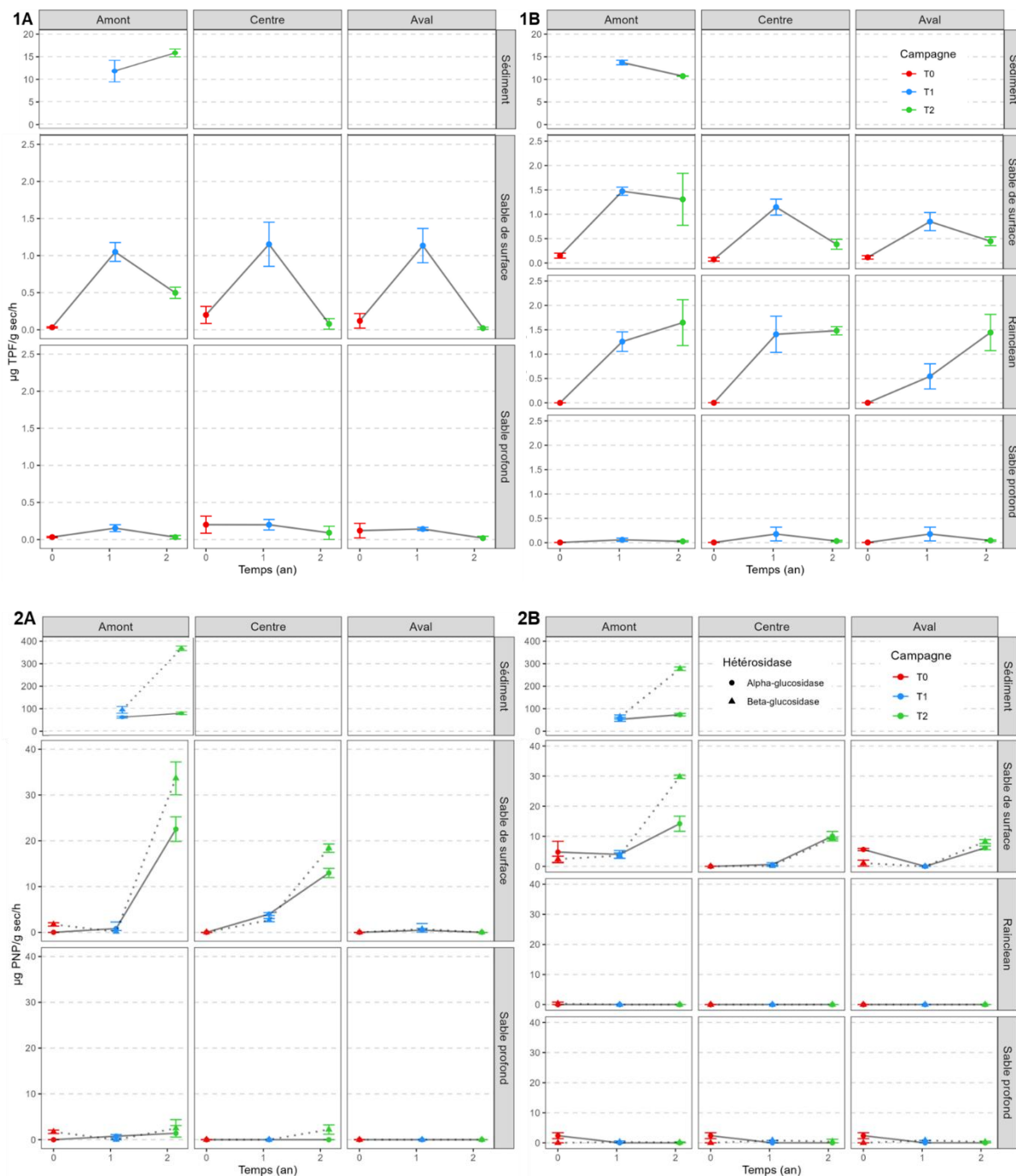
Annexe 3-18 : Abondances bactériennes et fongiques moyennes (NPP/g sec) dans les différents échantillons récupérés au cours des trois campagnes de prélèvement, et écarts-types associés. Sdt : sédiment (jaune) ; Ss : sable de surface (blanc) ; Rc : Rainclean (gris) ; Sp : sable profond (blanc).

| Filtre | Echantillon | NPP bactéries (NPP/g sec) | | | NPP champignons (NPP/g sec) | | |
|------------------|------------------|------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------|-----------------|----------------|
| | | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 |
| FS : Sable | Sdt-Amont | | 1,8E+6 (8,5E+5) | 6,2E+5 (2,6E+5) | 22929 (11183) | 2178 (1326) | |
| | Ss-Amont | 9,3E+3 (3,8E+3) | 5,0E+4 (2,2E+4) | 1,4E+5 (6,5E+4) | 0 (5,8) | 5543 (2487) | 0 (0) |
| | Ss-Centre | 2,4E+3 (1,3E+3) | 5,0E+4 (2,2E+4) | 1,7E+5 (8,0E+4) | 0 (5,7) | 1807 (1142) | 0 (0) |
| | Ss-Aval | 3,8E+3 (1,8E+3) | 3,1E+4 (1,5E+4) | 9,3E+4 (3,8E+4) | 0 (5,7) | 7795 (3050) | 0 (0) |
| | Sp-Amont | 9,3E+3 (3,8E+3) | 4,0E+3 (1,9E+3) | 1,7E+4 (6,4E+3) | 0 (5,8) | 0 (5,6) | 0 (0) |
| | Sp-Centre | 2,4E+3 (1,3E+3) | 5,1E+3 (2,2E+3) | 6,8E+3 (2,8E+3) | 0 (5,7) | 584 (711) | 0 (0) |
| | Sp-Aval | 3,8E+3 (1,8E+3) | 1,3E+4 (5,0E+3) | 2,1E+3 (1,3E+3) | 0 (5,7) | 0 (5,7) | 0 (0) |
| | FR : Rainclean | Sdt-Amont | | 1,1E+6 (4,3E+5) | 7,0E+5 (2,9E+5) | 18012 (8391) | 2162 (1316) |
| Ss-Amont | | 1,4E+4 (6,5E+3) | 6,7E+4 (2,8E+4) | 6,0E+4 (2,5E+4) | 0 (5,7) | 6603 (2729) | 595 (724) |
| Ss-Centre | | 1,4E+4 (6,4E+3) | 7,6E+4 (3,3E+4) | 2,9E+4 (1,4E+4) | 593 (722) | 4188 (1802) | 598 (728) |
| Ss-Aval | | 9,1E+3 (3,4E+3) | 5,5E+4 (2,5E+4) | 2,3E+5 (1,1E+5) | 0 (5,7) | 4001 (1941) | 1902 (1202) |
| Rc-Amont | | 0 (7,9) | 4,1E+3 (2,0E+3) | 3,2E+4 (1,5E+4) | 0 (8,0) | 598 (728) | 0 (0) |
| Rc-Centre | | 0 (6,7) | 5,2E+3 (2,3E+3) | 6,9E+4 (2,9E+4) | 0 (6,7) | 0 (5,8) | 0 (0) |
| RC-Aval | | 1,5E+3 (1,1E+3) | 1,5E+4 (5,6E+3) | 1,1E+5 (4,4E+4) | 0 (5,8) | 589 (717) | 0 (0) |
| Sp-Amont | | 6,8E+3 (2,8E+3) | 2,9E+3 (1,6E+3) | 2,8E+3 (1,5E+3) | 0 (5,8) | 0 (5,6) | 0 (0) |
| Sp-Centre | | 6,8E+3 (2,8E+3) | 7,6E+3 (3,3E+3) | 4,6E+3 (2,0E+3) | 0 (5,8) | 585 (712) | 0 (0) |
| Sp-Aval | | 6,8E+3 (2,8E+3) | 7,6E+3 (3,3E+3) | 2,8E+3 (1,5E+3) | 0 (5,8) | 585 (712) | 0 (0) |

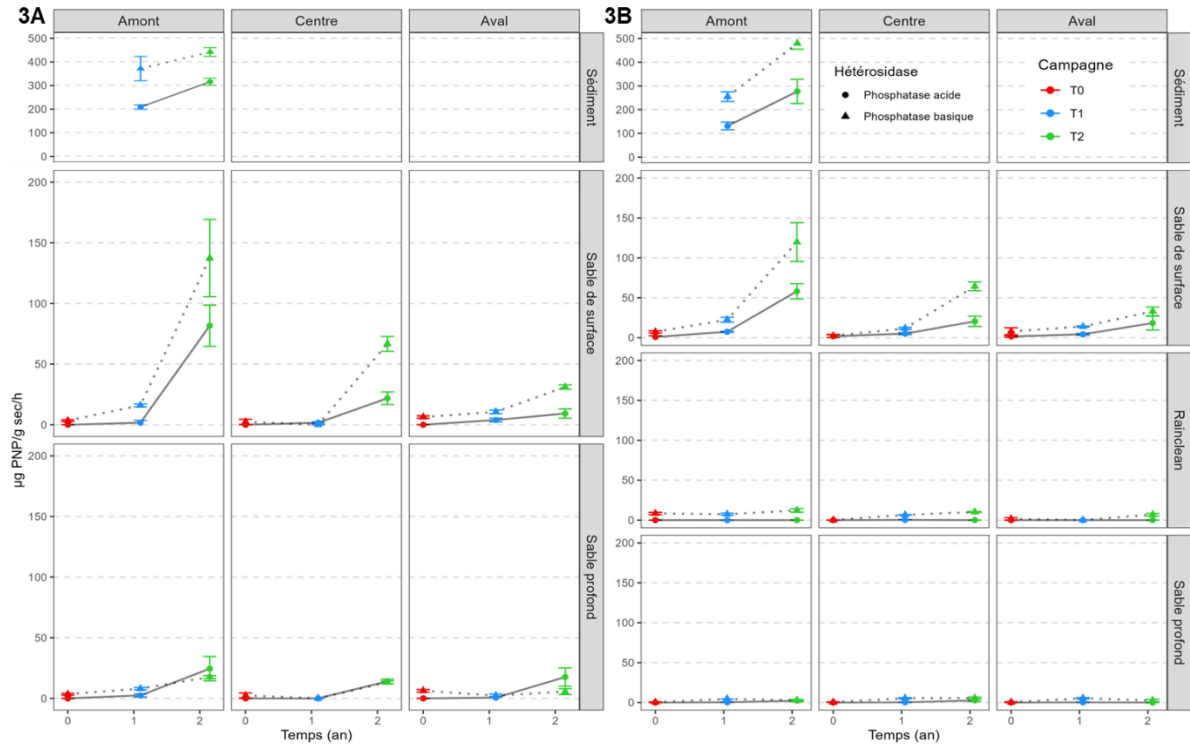
Annexe 3-19 : Evolution spatio-temporelle de l'abondance fongique (NPP/g sec) selon les différents échantillons de substrats. A : Filtre FS ; B : Filtre FR. L'évolution selon la localisation horizontale (amont, centre et aval) est représentée de gauche à droite tandis que celle de la localisation verticale (sédiment, sable de surface, Rc, sable profond) est représentée de haut en bas. L'évolution selon le temps est représentée avec les couleurs dans chaque graphique. Les données sont représentées en échelle logarithmique, avec la moyenne de 3 répétitions pour chaque échantillon et les barres représentent l'écart-type associé.



Annexe 3-20 : Evolution spatio-temporelle des autres activités enzymatiques dosées selon les différents échantillons de substrats. 1 : Activité déshydrogénase ($\mu\text{gTPPF/g sec/h}$) ; 2 : Activités hétérosidases de l' α et β glucosidase ($\mu\text{gPNP/g sec/h}$) ; 3 : Activités hétérosidases de la phosphatase acide et basique ($\mu\text{gPNP/g sec/h}$). A : Filtre FS ; B : Filtre FR. L'évolution selon la localisation horizontale (amont, centre et aval) est représentée de gauche à droite tandis que celle de la localisation verticale (sédiment, sable de surface, Rc, sable profond) est représentée de haut en bas. L'évolution selon le temps est représentée avec les couleurs dans chaque graphique. L'échelle est similaire pour tous les échantillons sauf pour le sédiment. Chaque point correspond à la moyenne de 3 répétitions et les barres représentent l'écart-type associé.



Annexe 3-20 (suite) : Evolution spatio-temporelle des autres activités enzymatiques dosées selon les différents échantillons de substrats. 1 : Activité déshydrogénase ($\mu\text{gTPPF/g sec/h}$) ; 2 : Activités hétérosidases de l' α et β glucosidase ($\mu\text{gPNP/g sec/h}$) ; 3 : Activités hétérosidases de la phosphatase acide et basique ($\mu\text{gPNP/g sec/h}$). A : Filtre FS ; B : Filtre FR. L'évolution selon la localisation horizontale (amont, centre et aval) est représentée de gauche à droite tandis que celle de la localisation verticale (sédiment, sable de surface, Rc, sable profond) est représentée de haut en bas. L'évolution selon le temps est représentée avec les couleurs dans chaque graphique. L'échelle est similaire pour tous les échantillons sauf pour le sédiment. Chaque point correspond à la moyenne de 3 répétitions et les barres représentent l'écart-type associé.



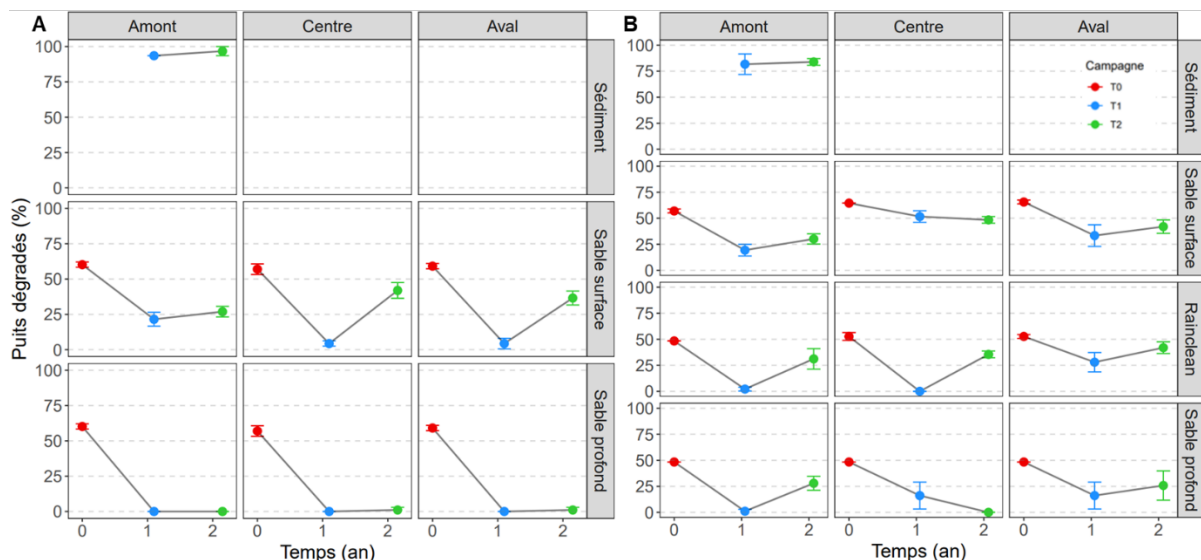
Annexe 3-21 : Activités enzymatiques globales moyennes (molécule libérée/g sec/h) dans les différents échantillons récupérés au cours des trois campagnes de prélèvement, et écarts-types associés. Sdt : sédiment (jaune) ; Ss : sable de surface (blanc) ; Rc : Rainclean (gris) ; Sp : sable profond (blanc).

| Filtre | Echantillon | HFDA (μg fluorescéine/g sec/h) | | | Déshydrogénase (μg TPF/g sec/h) | | |
|---------|-------------|--|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| | | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 |
| LS | Sdt-Amont | | 14,5 (0,1) | 30,1 (2,2) | | 11,8 (2,4) | 15,8 (0,9) |
| | Ss-Amont | 0,57 (0,04) | 18,1 (0,7) | 10,6 (0,4) | 0,03 (0,01) | 1,05 (0,13) | 0,5 (0,08) |
| | Ss-Centre | 0,58 (0,1) | 13,5 (1,9) | 6,23 (0,82) | 0,2 (0,11) | 1,15 (0,3) | 0,08 (0,07) |
| | Ss-Aval | 0,73 (0,2) | 7,27 (0,77) | 2,16 (0,35) | 0,12 (0,1) | 1,13 (0,23) | 0,02 (0,01) |
| | Sp-Amont | 0,57 (0,04) | 4,51 (1,75) | 0,99 (0,1) | 0,03 (0,01) | 0,15 (0,05) | 0,03 (0,02) |
| | Sp-Centre | 0,58 (0,1) | 5,33 (0,74) | 0,3 (0,05) | 0,2 (0,11) | 0,2 (0,07) | 0,09 (0,09) |
| | Sp-Aval | 0,73 (0,2) | 4,21 (0,9) | 0,34 (0,1) | 0,12 (0,1) | 0,14 (0,02) | 0,02 (0,03) |
| LR | Sdt-Amont | | 14,5 (0,6) | 28,6 (2,3) | | 13,7 (0,5) | 10,7 (0) |
| | Ss-Amont | 2,28 (0,29) | 17,6 (0,4) | 10,9 (1) | 0,15 (0,05) | 1,47 (0,08) | 1,31 (0,53) |
| | Ss-Centre | 1,4 (0,21) | 13,9 (2) | 5,55 (0,56) | 0,08 (0,04) | 1,15 (0,16) | 0,38 (0,1) |
| | Ss-Aval | 2,01 (0,88) | 9,09 (0,41) | 2,73 (0,04) | 0,12 (0,03) | 0,85 (0,19) | 0,45 (0,09) |
| | Rc-Amont | 0 | 7 (0,57) | 0 | 0 | 1,26 (0,2) | 1,65 (0,47) |
| | Rc-Centre | 0 | 5,47 (2,13) | 0 | 0,001 (0) | 1,41 (0,37) | 1,48 (0,08) |
| | Rc-Aval | 0 | 4,47 (1,21) | 0 | 0,001 (0) | 0,54 (0,26) | 1,44 (0,37) |
| | Sp-Amont | 0 | 7,25 (0,54) | 0,25 (0,05) | 0,01 (0) | 0,06 (0,03) | 0,03 (0,01) |
| | Sp-Centre | 0 | 3,08 (0,12) | 0 | 0,01 (0) | 0,18 (0,14) | 0,03 (0,02) |
| Sp-Aval | 0 | 3,08 (0,12) | 0 | 0,01 (0) | 0,18 (0,14) | 0,04 (0,01) | |

Annexe 3-22 : Activités enzymatiques de cycles biogéochimiques spécifiques moyennes (molécule libérée/g sec/h) dans les différents échantillons récupérés au cours des trois campagnes de prélèvement, et écarts-types associés. Sdt : sédiment (jaune) ; Ss : sable de surface (blanc) ; Rc : Rainclean (gris) ; Sp : sable profond (blanc). Am : amont ; Ce : centre ; Av : aval.

| Echantillon | A-glucosidase | | | B-glucosidase | | | Phosphatase acide | | | Phosphatase basique | | | Uréase | | |
|---------------|---------------|-------------|-------------|---------------|-------------|-------------|-------------------|--------------|--------------|---------------------|--------------|--------------|-------------|--------------|---------------|
| | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 |
| Sdt-Am | | 61,1 (4,3) | 78,2 (5,5) | | 93,5 (15,2) | 366,3 (10) | | 207,6 (9,6) | 314,8 (15) | | 370,4 (51,5) | 440,8 (18,7) | | 663 (83) | 1015 (69) |
| Ss-Am | 0 | 0,82 (1,42) | 22,5 (2,7) | 1,72 (0,37) | 0,15 (0,26) | 33,6 (3,6) | 0 | 1,67 (1,89) | 81,6 (17) | 4,13 (1,12) | 15,9 (1,3) | 137,4 (31,8) | 10,6 (2,3) | 32,3 (4,9) | 183,9 (48,4) |
| Ss-Ce | 0 | 3,98 (0,3) | 13 (1) | 0 | 2,67 (0,35) | 18,4 (0,9) | 0 | 1,66 (0,61) | 21,8 (5,2) | 2,48 (3,13) | 0 | 66,7 (6,1) | 14,2 (1,1) | 36,9 (1,4) | 110,2 (25,8) |
| Ss-Av | 0 | 0,46 (0,4) | 0 | 0 | 0,7 (1,22) | 0 | 0 | 3,88 (1,53) | 9,26 (3,86) | 5,34 (1,95) | 10,6 (1,5) | 31,1 (1,8) | 16 (1,4) | 46,3 (3,3) | 69,5 (15,9) |
| Sp-Am | 0 | 0,77 (0,35) | 1,4 (1,69) | 1,72 (0,37) | 0 | 2,49 (1,9) | 0 | 2,43 (1,26) | 24,5 (10,1) | 4,13 (1,12) | 8,04 (0,93) | 17,6 (1,2) | 10,6 (2,3) | 9,33 (1,7) | 12,8 (3,7) |
| Sp-Ce | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,22 (1,03) | 0 | 0 | 14,05 (1,81) | 2,48 (3,13) | 0,05 (0,05) | 13,3 (1,2) | 14,2 (1,1) | 6,69 (2,19) | 1,41 (2,45) |
| Sp-Av | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,59 (1,03) | 17,57 (7,57) | 5,34 (1,95) | 2,31 (1,26) | 5,56 (2,44) | 16 (1,4) | 7,31 (1,16) | 1,72 (2,06) |
| Sdt-Am | | 52,8 (9,1) | 73,5 (5,6) | | 63,3 (9) | 277,6 (7,7) | | 131,5 (16,3) | 277 (51,4) | | 255,1 (20,3) | 479,3 (24,3) | | 640,5 (37,7) | 763,6 (118,3) |
| Ss-Am | 4,76 (3,57) | 3,97 (1,26) | 14,2 (2,5) | 2,38 (0,99) | 3,56 (0,93) | 29,8 (0,6) | 0,86 (1,5) | 7,37 (0,61) | 58,1 (9,5) | 7,96 (0,75) | 22,5 (3,1) | 119,8 (24,3) | 17,2 (2,9) | 104,8 (12,2) | 188,1 (19,8) |
| Ss-Ce | 0 | 0,6 (0,6) | 10,0 (1,6) | 0 | 0,13 (0,23) | 9,36 (0,29) | 1,73 (1,98) | 5,02 (1,26) | 20,4 (6,5) | 2,38 (1,63) | 11,7 (1,2) | 64,3 (5,5) | 11,6 (3) | 62,1 (4,8) | 126,3 (7,7) |
| Ss-Av | 5,6 (0,37) | 0 | 6,16 (0,58) | 1,08 (0,99) | 0 | 8,24 (0,66) | 1,51 (0,99) | 4,2 (1,05) | 18,3 (8,7) | 7,19 (2,91) | 13,9 (0,6) | 33 (5,5) | 33,3 (4,4) | 79,9 (9,4) | 105,5 (17,8) |
| Rc-Am | 0 | 0 | 0 | 0,3 (0,52) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7,47 (1,04) | 7,38 (1,27) | 12,1 (2,1) | 17,6 (2) | 72 (5,4) | 48,2 (3) |
| Rc-Ce | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,21 (0,36) | 0 | 0 | 6,51 (0,36) | 10,1 (0,6) | 2,69 (2,39) | 64,2 (4,6) | 45,8 (16,1) |
| Rc-Av | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6,87 (1,59) | 3,36 (0,82) | 77,6 (9,8) | 52,1 (15,2) |
| Sp-Am | 2,38 (0,99) | 0 | 0 | 0 | 0,28 (0,35) | 0,12 (0,21) | 0 | 0,32 (0,28) | 2,29 (1,49) | 0 | 4,53 (0) | 2,81 (0,68) | 2,68 (2,05) | 15,3 (5,9) | 5,69 (2,23) |
| Sp-Ce | 2,38 (0,99) | 0 | 0 | 0 | 0,81 (0) | 0,43 (0,75) | 0 | 0,24 (0,21) | 2,67 (1,49) | 0 | 5,45 (0,7) | 5,57 (1,19) | 2,68 (2,05) | 21,4 (4) | 8,55 (0,8) |
| Sp-Av | 2,38 (0,99) | 0 | 0 | 0 | 0,81 (0) | 0,3 (0,26) | 0 | 0,24 (0,21) | 0 | 0 | 5,45 (0,7) | 2,56 (1,49) | 2,68 (2,05) | 21,4 (4) | 9,98 (1,82) |

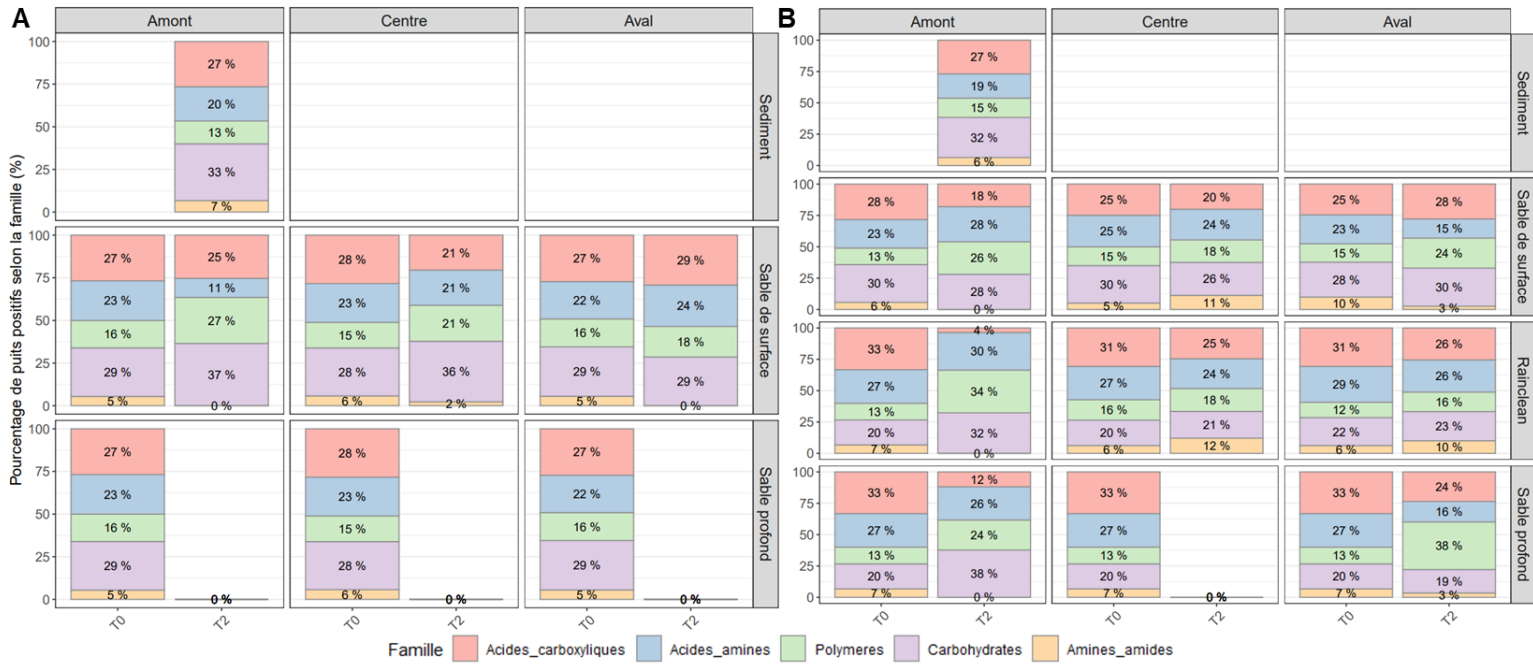
Annexe 3-23 : Evolution spatio-temporelle de du pourcentage de sources dégradées (%) selon les différents échantillons de substrats. A : Filtre FS ; B : Filtre FR. L'évolution selon la localisation horizontale (amont, centre et aval) est représentée de gauche à droite tandis que celle de la localisation verticale (sédiment, sable de surface, Rc, sable profond) est représentée de haut en bas. L'évolution selon le temps est représentée avec les couleurs dans chaque graphique. Chaque point correspond à la moyenne de 3 répétitions et les barres représentent l'écart-type associé.



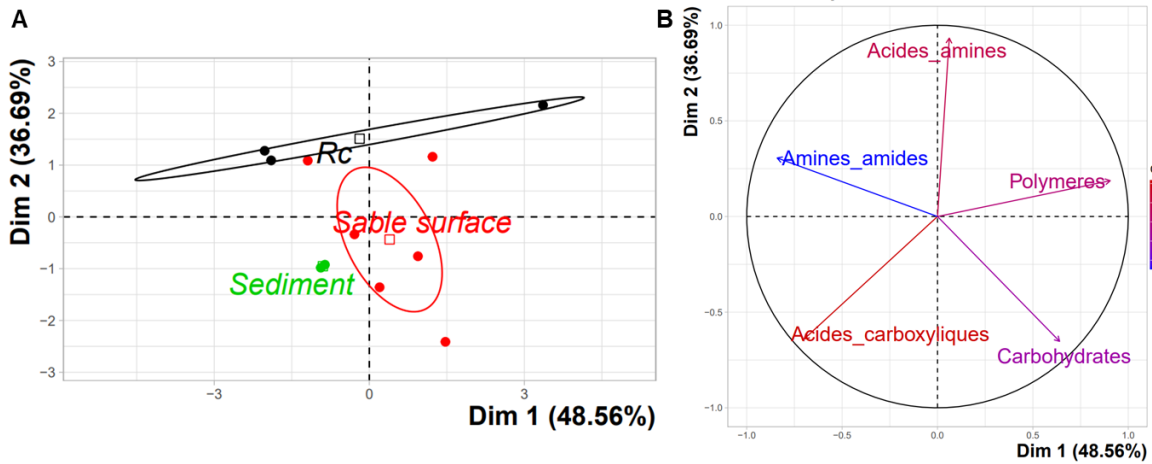
Annexe 3-24 : Potentiel fonctionnel moyen (AWCD et pourcentage total de puits dégradés) dans les différents échantillons récupérés au cours des trois campagnes de prélèvement, et écarts-types associés. Sdt : sédiment (jaune) ; Ss : sable de surface (blanc) ; Rc : Rainclean (gris) ; Sp : sable profond (blanc). Am : amont ; Ce : centre ; Av : aval.

| Filtre | Echantillon | AWCD | | | % puits dégradés | | |
|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------------|-------------|------------|
| | | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 |
| FS | Sdt-Amont | 0 (0) | 1,89 (0,07) | 1,72 (0,21) | 0 (0) | 93,5 (0) | 96,8 (3,2) |
| | Ss-Amont | 0,56 (0,02) | 0,23 (0,07) | 0,18 (0,03) | 60,2 (1,9) | 21,5 (4,9) | 26,9 (3,7) |
| | Ss-Centre | 0,55 (0,01) | 0,04 (0,03) | 0,41 (0,07) | 57 (3,7) | 4,3 (1,9) | 41,9 (5,6) |
| | Ss-Aval | 0,54 (0,01) | 0,02 (0,02) | 0,34 (0,06) | 59,1 (1,9) | 4,3 (3,7) | 36,6 (4,9) |
| | Sp-Amont | 0,56 (0,02) | 0 (0) | 0 (0) | 60,2 (1,9) | 0 (0) | 0 (0) |
| | Sp-Centre | 0,55 (0,01) | 0 (0) | 0 (0,01) | 57 (3,7) | 0 (0) | 1,1 (1,9) |
| | Sp-Aval | 0,54 (0,01) | 0 (0) | 0 (0,01) | 59,1 (1,9) | 0 (0) | 1,1 (1,9) |
| FR | Sdt-Amont | 0 (0) | 1,35 (0,21) | 1,31 (0,04) | 0 (0) | 81,7 (9,9) | 83,9 (3,2) |
| | Ss-Amont | 0,58 (0,01) | 0,13 (0,06) | 0,38 (0,1) | 57 (1,9) | 19,4 (5,6) | 30,1 (4,9) |
| | Ss-Centre | 0,66 (0,01) | 0,69 (0,07) | 0,6 (0,03) | 64,5 (0) | 51,6 (5,6) | 48,4 (3,2) |
| | Ss-Aval | 0,64 (0,02) | 0,29 (0,12) | 0,51 (0,11) | 65,6 (1,9) | 33,3 (10,4) | 41,9 (6,5) |
| | Rc-Amont | 0,51 (0,01) | 0,02 (0,02) | 0,24 (0,06) | 48,4 (0) | 2,2 (1,9) | 31,2 (9,9) |
| | Rc-Centre | 0,52 (0,02) | 0 (0) | 0,43 (0,16) | 52,7 (3,7) | 0 (0) | 35,5 (3,2) |
| | Rc-Aval | 0,55 (0,02) | 0,25 (0,06) | 0,52 (0,13) | 52,7 (1,9) | 28 (9,3) | 41,9 (5,6) |
| | Sp-Amont | 0,54 (0,01) | 0 (0) | 0,27 (0,1) | 48,4 (0) | 0 (0) | 28 (6,7) |
| | Sp-Centre | 0,54 (0,01) | 0,16 (0,09) | 0 (0) | 48,4 (0) | 16,1 (12,9) | 0 (0) |
| Sp-Aval | 0,54 (0,01) | 0,16 (0,09) | 0,24 (0,1) | 48,4 (0) | 16,1 (12,9) | 25,8 (14,1) | |

Annexe 3-25 : Evolution spatio-temporelle des pourcentages de dégradation des différentes sources de carbone des microplaques BIOLOG, selon les cinq familles de source de carbone pour les campagnes T0 et T2. A : Filtre FS ; B : Filtre FR.



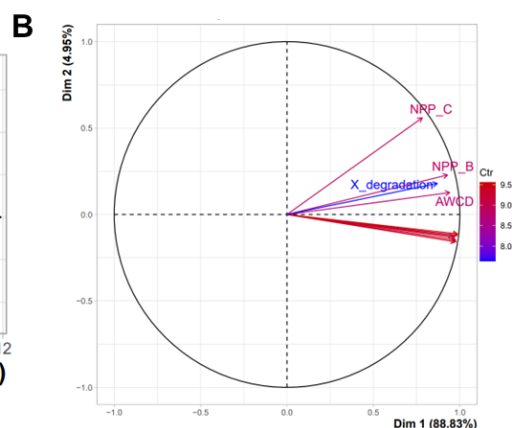
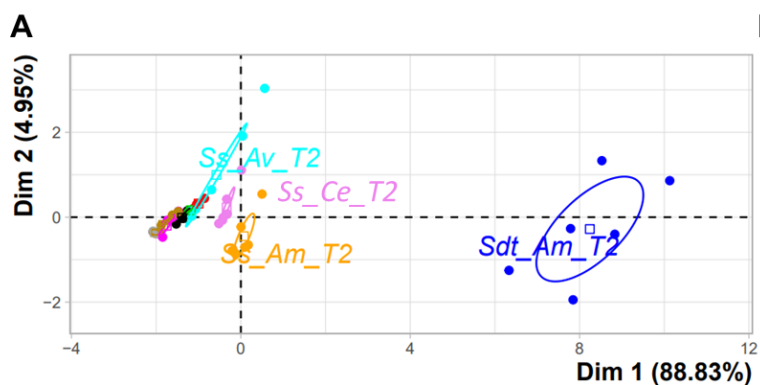
Annexe 3-26 : Analyse en Composante Principale (ACP) du sédiment, sable de surface et Rc lors de la campagne T2. A : Graphique des individus : projection de la variabilité de l'ensemble des données sur une carte factorielle des deux premiers axes discriminants. B : Graphique des variables : cercle de corrélation des vecteurs des variables étudiées (carbohydrates, polymères, acides carboxyliques, acides aminés et amines/amides). Les deux premiers axes expliquent 72,1 % de l'inertie totale du jeu de données.



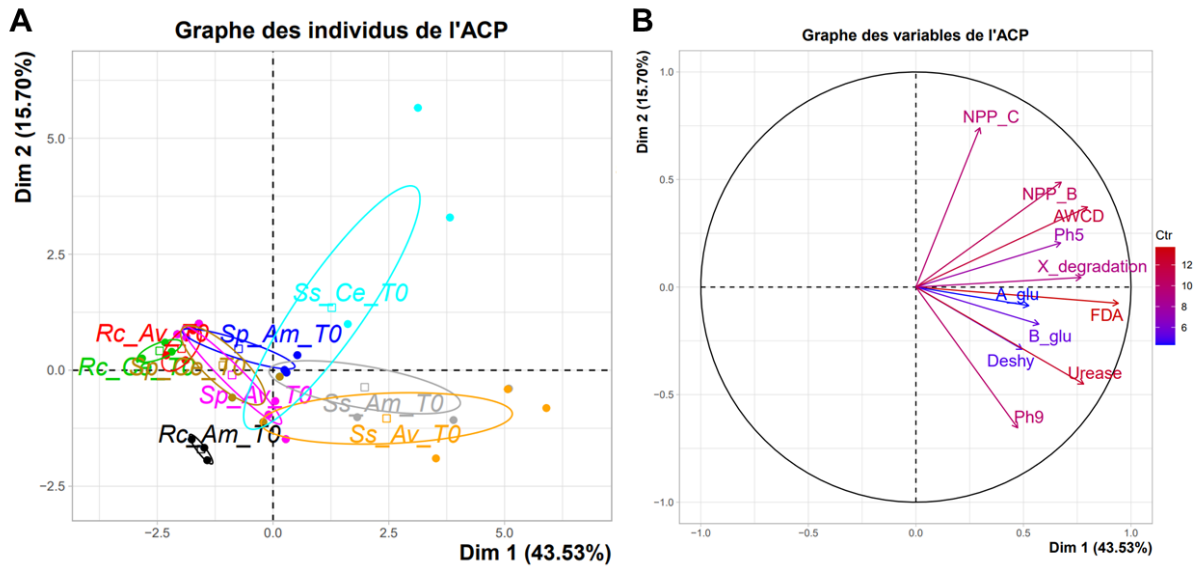
Annexe 3-27 : Teneurs en eau (%) dans les différents échantillons selon la campagne T0, T1 ou T2. Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond. Am : amont ; C : centre ; Av : aval.

| Echantillon | % d'eau | | |
|-------------|---------|-------|-------|
| | T0 | T1 | T2 |
| Sdt-Am | | 50,27 | 46,85 |
| Ss-Am | 7,74 | 6,58 | 6,28 |
| Ss-C | 9,06 | 3,47 | 2,88 |
| FS Ss-Av | 8,67 | 3,7 | 2,67 |
| Sp-Am | 7,74 | 5,52 | 3,69 |
| Sp-C | 9,06 | 4,96 | 4,08 |
| Sp-Av | 8,67 | 4,73 | 3,55 |
| Sdt-Am | | 49,45 | 43,56 |
| Ss-Am | 4,23 | 8,01 | 7,58 |
| Ss-C | 8,76 | 4,89 | 7,47 |
| Ss-Av | 9,40 | 4,23 | 5,5 |
| FR Rc-Am | 8,90 | 33,83 | 32,3 |
| Rc-C | 9,10 | 32,71 | 31,3 |
| Rc-Av | 8,70 | 30,25 | 31,63 |
| Sp-Am | 8,75 | 7,6 | 9,25 |
| Sp-C | 8,75 | 7,98 | 8,79 |
| Sp-Av | 8,75 | 7,98 | 6,59 |

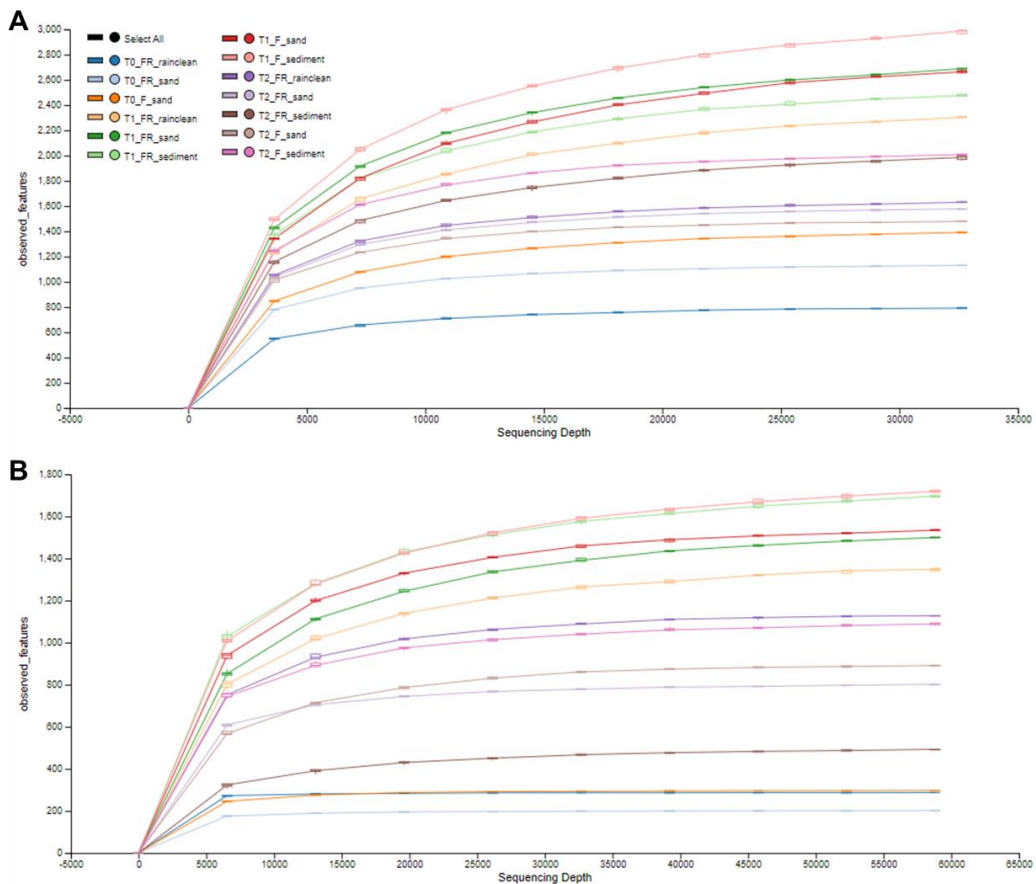
Annexe 3-28 : Analyse en Composante Principale (ACP) des différents échantillons lors de la campagne T2. A : Graphique des individus : projection de la variabilité de l'ensemble des données sur une carte factorielle des deux premiers axes discriminants. Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond. Am : amont ; C : centre ; Av : aval. B : Graphique des variables : cercle de corrélation des vecteurs des variables étudiées (abondance bactérienne NPP_B, abondance fongique NPP_C, activités enzymatiques urease, Ph5, Ph9, B_glu, A-glu, FDA, deshy, absorbance moyenne des plaques BIOLOG AWCD et pourcentage de dégradation des plaques BIOLOG X_deg). Les deux premiers axes expliquent 93,78 % de l'inertie totale du jeu de données.



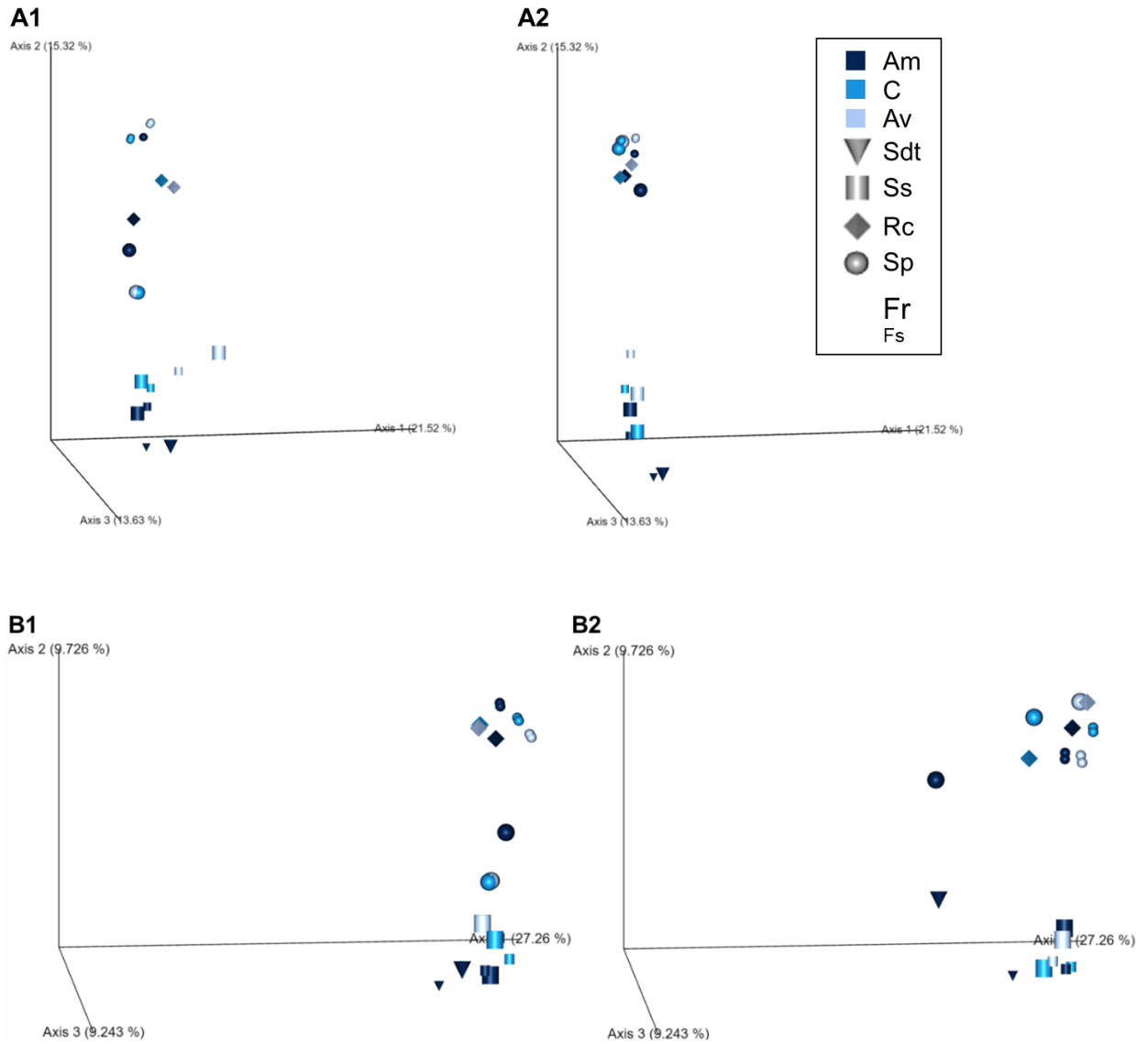
Annexe 3-29 : Analyse en Composante Principale (ACP) des différents échantillons lors de la campagne T0 (absence de sédiment). A : Graphique des individus : projection de la variabilité de l'ensemble des données sur une carte factorielle des deux premiers axes discriminants. Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond. Am : amont ; C : centre ; Av : aval. B : Graphique des variables : cercle de corrélation des vecteurs des variables étudiées (abondance bactérienne NPP_B, abondance fongique NPP_C, activités enzymatiques urease, Ph5, Ph9, B_glu, A_glu, FDA, deshy, absorbance moyenne des plaques BIOLOG AWCD et pourcentage de dégradation des plaques BIOLOG X_deg). Les deux premiers axes expliquent 59,23 % de l'inertie totale du jeu de données.



Annexe 3-30 : Saturation de la diversité après la raréfaction des séquences des échantillons (normalisation au plus petit nombre de séquences obtenues dans un échantillon). A : pour les bactéries ; B : pour les champignons.



Annexe 3-31 : Analyse en coordonnées principales (PCoA) basée sur les distances Bray-Curtis (diversité bêta) des bactéries (A) et champignons (B) des différents échantillons lors des campagnes T1 et T2. Les échantillons sont séparés selon le temps (1 : T1 ; 2 : T2). Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond. Le filtre FS est représenté à une échelle plus faible que le filtre FR. Les trois premiers axes expliquent 50,5 % de la variabilité totale des échantillons.



Annexe 0-1 : Abondances relatives des différents embranchements **bactériens** ayant une abondance supérieure à 1 % dans les deux FPR et lors des trois campagnes. Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond ; Am : amont ; C : centre ; Av : Aval.

| Echantillon | Alpha proteobacteria | Beta proteobacteria | Delta proteobacteria | Gamma proteobacteria | Autres Proteobacteria | Actino-bacteria | Bacteroidetes | Gemmati-monadetes | Acido-bacteria | Nitrospirae | Firmicutes | Others (<1%) |
|------------------|----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------|---------------|-------------------|----------------|-------------|------------|--------------|
| Ss-Am-T0 | 14,9 | 18,4 | 4,2 | 29,3 | 0,1 | 12,6 | 8,8 | 1,2 | 1,2 | 0,4 | 7,9 | 1,0 |
| Ss-C-T0 | 42,7 | 19,3 | 4,1 | 9,2 | 0,1 | 10,1 | 4,3 | 3,3 | 2,0 | 0,3 | 1,8 | 2,7 |
| Ss-Av-T0 | 25,6 | 26,0 | 6,8 | 9,9 | 0,3 | 16,9 | 4,4 | 2,9 | 3,0 | 0,7 | 2,0 | 1,6 |
| Sp-Am-T0 | 14,9 | 18,4 | 4,2 | 29,3 | 0,1 | 12,6 | 8,8 | 1,2 | 1,2 | 0,4 | 7,9 | 1,0 |
| Sp-C-T0 | 42,7 | 19,3 | 4,1 | 9,2 | 0,1 | 10,1 | 4,3 | 3,3 | 2,0 | 0,3 | 1,8 | 2,7 |
| Sp-Av-T0 | 25,6 | 26,0 | 6,8 | 9,9 | 0,3 | 16,9 | 4,4 | 2,9 | 3,0 | 0,7 | 2,0 | 1,6 |
| Sdt-Am-T1 | 25,1 | 15,2 | 10,5 | 15,9 | 0,2 | 11,1 | 12,1 | 3,1 | 3,2 | 1,5 | 0,4 | 1,7 |
| Ss-Am-T1 | 28,4 | 15,3 | 8,0 | 13,7 | 0,1 | 10,4 | 12,8 | 2,7 | 3,0 | 2,2 | 2,0 | 1,4 |
| Ss-C-T1 | 32,6 | 11,7 | 4,4 | 7,6 | 0,1 | 22,4 | 7,3 | 3,1 | 5,9 | 2,0 | 1,7 | 1,2 |
| Ss-Av-T1 | 30,5 | 11,1 | 4,7 | 6,4 | 0,1 | 27,5 | 7,8 | 3,4 | 3,8 | 1,5 | 1,8 | 1,3 |
| Sp-Am-T1 | 24,5 | 22,4 | 5,9 | 13,5 | 0,4 | 9,7 | 8,4 | 3,5 | 3,3 | 3,9 | 0,5 | 4,1 |
| Sp-C-T1 | 25,3 | 20,8 | 5,1 | 14,1 | 0,5 | 10,5 | 8,1 | 4,0 | 3,2 | 4,3 | 0,5 | 3,6 |
| Sp-Av-T1 | 22,2 | 19,5 | 5,7 | 13,6 | 0,3 | 13,6 | 7,6 | 5,1 | 3,3 | 4,8 | 0,6 | 3,7 |
| Sdt-Am-T2 | 26,6 | 13,0 | 8,4 | 14,2 | 0,1 | 19,0 | 10,2 | 2,4 | 3,6 | 0,9 | 0,6 | 0,9 |
| Ss-Am-T2 | 30,8 | 11,2 | 4,8 | 12,1 | 0,1 | 22,0 | 6,7 | 3,3 | 4,1 | 2,2 | 1,4 | 1,2 |
| Ss-C-T2 | 34,3 | 12,7 | 4,3 | 9,4 | 0,0 | 20,4 | 6,2 | 4,9 | 2,7 | 2,7 | 1,6 | 0,8 |
| Ss-Av-T2 | 29,3 | 13,7 | 4,9 | 9,2 | 0,1 | 23,0 | 6,0 | 5,6 | 3,0 | 2,7 | 1,3 | 1,2 |
| Sp-Am-T2 | 26,9 | 15,4 | 4,1 | 18,5 | 0,4 | 16,9 | 5,9 | 3,9 | 2,8 | 2,1 | 1,2 | 2,0 |
| Sp-C-T2 | 28,7 | 19,0 | 4,4 | 16,1 | 0,3 | 13,4 | 6,5 | 3,6 | 2,4 | 2,7 | 0,7 | 2,0 |
| Sp-Av-T2 | 29,0 | 17,0 | 5,1 | 12,3 | 0,4 | 16,0 | 5,6 | 4,5 | 3,2 | 3,8 | 0,8 | 2,3 |

FS

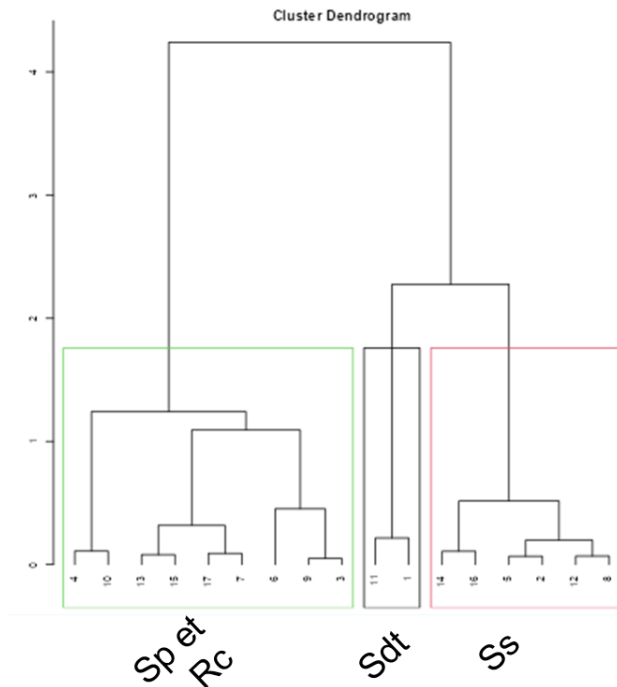
| Echantillon | Alpha proteobacteria | Beta proteobacteria | Delta proteobacteria | Gamma proteobacteria | Autres Proteobacteria | Actino-bacteria | Bacteroidetes | Gemmati-monadetes | Acido-bacteria | Nitrospirae | Firmicutes | Others (<1%) |
|-------------|----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------|---------------|-------------------|----------------|-------------|------------|--------------|
| Ss-Am-T0 | 18,9 | 13,8 | 5,8 | 5,7 | 0,1 | 45,4 | 1,2 | 1,5 | 1,6 | 0,6 | 4,2 | 1,3 |
| Ss-C-T0 | 25,4 | 26,6 | 6,6 | 11,1 | 0,1 | 17,0 | 4,9 | 2,7 | 1,5 | 0,6 | 1,7 | 1,6 |
| Ss-Av-T0 | 28,2 | 23,1 | 7,8 | 11,9 | 0,1 | 12,3 | 5,7 | 2,5 | 3,5 | 0,4 | 3,3 | 1,2 |
| Rc-Am-T0 | 36,0 | 28,7 | 4,1 | 18,3 | 0,2 | 6,1 | 1,8 | 1,9 | 0,2 | 0,5 | 0,8 | 1,4 |
| Rc-C-T0 | 27,5 | 34,8 | 4,8 | 18,1 | 1,0 | 5,8 | 2,7 | 2,8 | 0,2 | 0,7 | 0,4 | 1,0 |
| Rc-Av-T0 | 27,7 | 33,7 | 5,2 | 18,5 | 1,0 | 5,7 | 2,3 | 3,0 | 0,3 | 0,9 | 0,6 | 1,0 |
| Sp-Am-T0 | 17,4 | 34,0 | 1,1 | 12,3 | 0,0 | 29,1 | 1,5 | 1,4 | 0,3 | 0,8 | 1,0 | 0,9 |
| Sp-C-T0 | 17,4 | 34,0 | 1,1 | 12,3 | 0,0 | 29,1 | 1,5 | 1,4 | 0,3 | 0,8 | 1,0 | 0,9 |
| Sp-Av-T0 | 17,4 | 34,0 | 1,1 | 12,3 | 0,0 | 29,1 | 1,5 | 1,4 | 0,3 | 0,8 | 1,0 | 0,9 |
| Sdt-Am-T1 | 20,1 | 16,4 | 10,1 | 18,3 | 0,2 | 10,3 | 15,6 | 2,7 | 2,6 | 1,0 | 0,5 | 2,1 |
| Ss-Am-T1 | 28,9 | 14,8 | 5,3 | 13,9 | 0,2 | 14,7 | 11,2 | 2,2 | 3,7 | 2,4 | 1,3 | 1,3 |
| Ss-C-T1 | 28,0 | 15,2 | 4,9 | 12,9 | 0,2 | 17,2 | 10,9 | 3,0 | 2,4 | 2,4 | 1,6 | 1,3 |
| Ss-Av-T1 | 27,4 | 10,5 | 4,3 | 6,1 | 0,1 | 31,4 | 9,0 | 3,0 | 3,0 | 1,3 | 2,5 | 1,4 |
| Rc-Am-T1 | 31,0 | 20,0 | 6,1 | 11,5 | 0,5 | 9,7 | 8,2 | 4,0 | 1,6 | 3,4 | 0,6 | 3,4 |
| FR Rc-C-T1 | 27,9 | 17,5 | 6,8 | 19,1 | 0,8 | 9,0 | 7,9 | 3,7 | 1,6 | 2,8 | 0,4 | 2,6 |
| Rc-Av-T1 | 28,8 | 18,5 | 7,0 | 14,6 | 1,0 | 10,8 | 8,4 | 3,7 | 1,7 | 2,8 | 0,3 | 2,3 |
| Sp-Am-T1 | 24,7 | 19,5 | 5,0 | 14,5 | 0,2 | 13,4 | 9,9 | 3,7 | 1,9 | 2,8 | 0,8 | 3,5 |
| Sp-C-T1 | 25,0 | 19,6 | 3,8 | 14,6 | 0,2 | 16,4 | 10,0 | 3,5 | 1,7 | 2,3 | 0,9 | 2,1 |
| Sp-Av-T1 | 25,0 | 19,6 | 3,8 | 14,6 | 0,2 | 16,4 | 10,0 | 3,5 | 1,7 | 2,3 | 0,9 | 2,1 |
| Sdt-Am-T2 | 25,1 | 11,0 | 7,0 | 14,4 | 0,3 | 23,3 | 7,5 | 2,6 | 5,0 | 1,0 | 0,5 | 2,2 |
| Ss-Am-T2 | 26,1 | 13,5 | 5,6 | 12,8 | 0,1 | 19,8 | 7,8 | 3,8 | 4,2 | 2,8 | 1,9 | 1,5 |
| Ss-C-T2 | 27,8 | 12,3 | 4,2 | 10,1 | 0,1 | 23,0 | 8,7 | 3,7 | 4,8 | 2,6 | 1,4 | 1,1 |
| Ss-Av-T2 | 30,7 | 12,2 | 5,6 | 10,5 | 0,1 | 22,4 | 6,8 | 4,1 | 2,8 | 2,6 | 1,4 | 0,8 |
| Rc-Am-T2 | 31,2 | 22,1 | 5,4 | 11,6 | 1,3 | 9,2 | 6,3 | 3,8 | 1,5 | 4,6 | 0,9 | 2,1 |
| Rc-C-T2 | 30,4 | 20,9 | 4,8 | 11,3 | 0,6 | 10,8 | 9,2 | 3,7 | 1,4 | 3,5 | 1,4 | 1,9 |
| Rc-Av-T2 | 32,3 | 20,2 | 5,7 | 12,6 | 1,4 | 10,2 | 5,6 | 4,5 | 1,6 | 3,3 | 0,7 | 1,9 |
| Sp-Am-T2 | 24,5 | 21,2 | 5,0 | 12,3 | 0,3 | 13,2 | 7,4 | 5,1 | 2,2 | 4,1 | 1,7 | 2,9 |
| Sp-C-T2 | 28,0 | 20,0 | 5,3 | 15,6 | 0,3 | 12,2 | 5,0 | 4,7 | 1,9 | 3,5 | 0,8 | 2,6 |
| Sp-Av-T2 | 21,7 | 21,3 | 5,7 | 15,3 | 0,3 | 11,2 | 7,7 | 4,9 | 2,1 | 4,9 | 1,5 | 3,4 |

Annexe 3-33 : Abondances relatives des différents embranchements **fongiques** ayant une abondance supérieure à 1 % dans les deux FPR et lors des trois campagnes. Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Sp : sable profond ; Am : amont ; C : centre ; Av : Aval.

| Echantillon | Ascomycota | Basidiomycota | Rozellomycota | Chytridiomycota | Zoopagomycota | Mortierellomycota | Glomeromycota | Mucoromycota | Blastocladiomycota | Unidentified | Others (<1%) |
|------------------|------------|---------------|---------------|-----------------|---------------|-------------------|---------------|--------------|--------------------|--------------|--------------|
| Ss-Am-T0 | 22,94 | 8,28 | 63,88 | 2,14 | 0,00 | 0,00 | 0,15 | 0,00 | 0,00 | 2,61 | 0,00 |
| Ss-C-T0 | 48,05 | 1,49 | 45,63 | 0,34 | 0,00 | 0,07 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 4,35 | 0,07 |
| Ss-Av-T0 | 14,25 | 0,85 | 81,57 | 1,94 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,35 | 0,04 |
| Sp-Am-T0 | 22,94 | 8,28 | 63,88 | 2,14 | 0,00 | 0,00 | 0,15 | 0,00 | 0,00 | 2,61 | 0,00 |
| Sp-C-T0 | 48,05 | 1,49 | 45,63 | 0,34 | 0,00 | 0,07 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 4,35 | 0,07 |
| Sp-Av-T0 | 14,25 | 0,85 | 81,57 | 1,94 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,35 | 0,04 |
| Sdt-Am-T1 | 76,63 | 8,19 | 3,43 | 8,50 | 0,11 | 0,22 | 0,34 | 0,19 | 0,02 | 2,34 | 0,02 |
| Ss-Am-T1 | 90,34 | 2,03 | 7,23 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,35 | 0,03 |
| Ss-C-T1 | 75,72 | 14,24 | 5,39 | 2,89 | 0,00 | 0,23 | 0,33 | 0,23 | 0,01 | 0,93 | 0,02 |
| Ss-Av-T1 | 90,69 | 4,10 | 2,47 | 1,59 | 0,00 | 0,25 | 0,12 | 0,12 | 0,00 | 0,64 | 0,02 |
| Sp-Am-T1 | 69,78 | 6,20 | 19,23 | 0,51 | 0,03 | 0,11 | 0,06 | 0,07 | 0,00 | 3,56 | 0,46 |
| Sp-C-T1 | 65,16 | 7,28 | 16,86 | 0,77 | 0,00 | 2,34 | 0,31 | 2,40 | 0,05 | 4,68 | 0,15 |
| Sp-Av-T1 | 67,91 | 7,91 | 14,72 | 0,63 | 0,00 | 1,88 | 0,48 | 0,13 | 0,12 | 5,74 | 0,48 |
| Sdt-Am-T2 | 79,23 | 11,60 | 3,53 | 2,41 | 0,14 | 0,86 | 0,30 | 0,10 | 0,01 | 1,76 | 0,06 |
| Ss-Am-T2 | 93,51 | 4,32 | 1,10 | 0,10 | 0,08 | 0,13 | 0,02 | 0,02 | 0,00 | 0,72 | 0,01 |
| Ss-C-T2 | 89,37 | 3,99 | 3,14 | 1,57 | 0,08 | 0,63 | 0,64 | 0,07 | 0,06 | 0,43 | 0,02 |
| Ss-Av-T2 | 92,76 | 3,24 | 2,31 | 0,46 | 0,16 | 0,46 | 0,08 | 0,14 | 0,01 | 0,37 | 0,02 |
| Sp-Am-T2 | 82,84 | 3,32 | 9,03 | 0,34 | 0,02 | 3,59 | 0,11 | 0,24 | 0,03 | 0,42 | 0,07 |
| Sp-C-T2 | 82,28 | 4,48 | 7,37 | 0,07 | 0,00 | 3,02 | 1,52 | 0,17 | 0,04 | 0,91 | 0,15 |
| Sp-Av-T2 | 86,71 | 4,62 | 4,92 | 0,18 | 0,00 | 1,60 | 0,15 | 0,08 | 0,03 | 1,57 | 0,15 |

| Echantillon | Ascomycota | Basidiomycota | Rozellomycota | Chytridio- mycota | Zoopago- mycota | Mortierello- mycota | Glomero- mycota | Mucoro- mycota | Blastocladio- mycota | Unidentified | Others |
|-------------------|------------|---------------|---------------|----------------------|--------------------|------------------------|--------------------|-------------------|-------------------------|--------------|--------|
| Ss-Am-T0 | 73,68 | 3,87 | 20,00 | 1,34 | 0,00 | 0,03 | 0,00 | 0,04 | 0,00 | 0,96 | 0,08 |
| Ss-C-T0 | 55,18 | 0,79 | 40,55 | 2,45 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,62 | 0,42 |
| Ss-Av-T0 | 29,90 | 0,45 | 68,30 | 1,02 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,04 | 0,00 | 0,29 | 0,00 |
| Rc-Am-T0 | 70,82 | 6,40 | 16,02 | 1,56 | 0,00 | 1,26 | 0,00 | 0,00 | 0,40 | 3,55 | 0,00 |
| Rc-C-T0 | 65,08 | 6,78 | 26,12 | 1,11 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,90 | 0,00 |
| Rc-Av-T0 | 66,26 | 6,11 | 26,02 | 0,66 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,29 | 0,00 | 0,66 | 0,00 |
| Sp-Am-T0 | 90,43 | 9,57 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Sp-C-T0 | 90,43 | 9,57 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Sp-Av-T0 | 90,43 | 9,57 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Sdt-Am-T1 | 75,18 | 10,41 | 5,68 | 4,03 | 0,37 | 0,89 | 0,41 | 0,40 | 0,04 | 2,52 | 0,07 |
| Ss-Am-T1 | 94,16 | 2,56 | 2,88 | 0,02 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,38 | 0,00 |
| Ss-C-T1 | 82,86 | 4,74 | 6,62 | 1,37 | 0,01 | 1,50 | 1,09 | 0,23 | 0,16 | 1,36 | 0,05 |
| Ss-Av-T1 | 85,31 | 2,44 | 0,67 | 1,97 | 0,00 | 8,24 | 0,52 | 0,14 | 0,15 | 0,54 | 0,01 |
| Rc-Am-T1 | 69,69 | 6,96 | 18,77 | 0,53 | 0,22 | 0,72 | 0,14 | 0,17 | 0,22 | 2,56 | 0,01 |
| FR Rc-C-T1 | 71,72 | 6,74 | 13,57 | 0,27 | 0,00 | 1,71 | 0,23 | 0,94 | 0,51 | 3,32 | 0,99 |
| Rc-Av-T1 | 73,49 | 3,89 | 2,86 | 0,14 | 0,00 | 17,21 | 0,00 | 0,03 | 0,07 | 2,27 | 0,04 |
| Sp-Am-T1 | 74,09 | 8,44 | 9,35 | 1,10 | 0,00 | 1,77 | 0,01 | 0,26 | 0,10 | 4,20 | 0,69 |
| Sp-C-T1 | 76,58 | 8,43 | 8,51 | 0,62 | 0,01 | 2,15 | 0,45 | 0,32 | 0,17 | 1,89 | 0,87 |
| Sp-Av-T1 | 76,58 | 8,43 | 8,51 | 0,62 | 0,01 | 2,15 | 0,45 | 0,32 | 0,17 | 1,89 | 0,87 |
| Sdt-Am-T2 | 91,84 | 0,20 | 4,12 | 0,00 | 3,38 | 0,00 | 0,07 | 0,00 | 0,00 | 0,38 | 0,00 |
| Ss-Am-T2 | 87,99 | 4,45 | 5,34 | 0,46 | 0,01 | 0,88 | 0,13 | 0,19 | 0,00 | 0,53 | 0,01 |
| Ss-C-T2 | 96,32 | 2,20 | 0,95 | 0,08 | 0,03 | 0,20 | 0,08 | 0,01 | 0,00 | 0,13 | 0,00 |
| Ss-Av-T2 | 90,43 | 2,24 | 3,26 | 0,52 | 0,00 | 1,82 | 1,23 | 0,07 | 0,04 | 0,37 | 0,03 |
| Rc-Am-T2 | 74,96 | 4,67 | 11,70 | 0,31 | 0,02 | 3,18 | 0,11 | 0,22 | 2,56 | 1,89 | 0,39 |
| Rc-C-T2 | 84,66 | 4,75 | 6,33 | 0,43 | 0,00 | 1,24 | 0,05 | 0,05 | 0,09 | 2,40 | 0,00 |
| Rc-Av-T2 | 75,39 | 2,98 | 8,61 | 0,68 | 0,00 | 10,71 | 0,09 | 0,09 | 0,19 | 1,18 | 0,08 |
| Sp-Am-T2 | 82,21 | 3,32 | 6,10 | 1,13 | 0,00 | 0,72 | 0,00 | 0,17 | 0,00 | 6,34 | 0,00 |
| Sp-C-T2 | 77,35 | 4,47 | 13,45 | 0,40 | 0,00 | 1,67 | 0,01 | 0,13 | 0,17 | 2,29 | 0,05 |
| Sp-Av-T2 | 83,00 | 4,57 | 8,21 | 0,44 | 0,00 | 2,55 | 0,02 | 0,09 | 0,09 | 1,04 | 0,00 |

Annexe 3-34 : Clustering hiérarchique obtenu à l'issu de l'ACP des embranchements bactériens, regroupant les différents échantillons récupérés au T2 selon leurs abondances relatives en phyla bactériens. Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Sp : sable profond.



Annexe 3-35 : ACP des différents substrats lors de la campagne T2 dans les filtres FS et FR. A : Graphique des individus : projection de la variabilité de l'ensemble des données T2 sur une carte factorielle des deux premiers axes discriminants. Sdt : sédiment ; Ss : sable de surface ; Rc : Rainclean ; Am : amont ; C : centre ; Av : Aval. B : Graphique des variables : cercle de corrélation des vecteurs des variables étudiées. TOC : carbone organique ; TOC_acc : carbone organique accumulé ; pH ; CEC ; Humidité ; % de limon ; N : azote ; FDA : hydrolyse de la FDA ; Deshydro : deshydrogénase ; B_glu β-glucosidase ; Ph_9 : phosphatase basique ; Uréase ; NPP_B : abondance bactérienne ; NPP_C : abondance fongique ; AWCD : potentiel fonctionnel ; Evenness_B : indice de régularité bactérien ; Shannon_C : indice de diversité de Shannon bactérien ; Evenness_C : indice de régularité fongique ; Shannon_B : indice de diversité de Shannon fongique ; Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, indices HC C10-C40, BPA, 4-OP, 4-NP, OP1EO, OP2EO, NP1EO, NP2EO. Les deux premiers axes expliquent 69,74 et 69,47 % de l'inertie totale du jeu de données de T0 et T2 respectivement.

