

Impact des éléments trace métalliques sur le milieu et apport de la cytométrie en flux dans l'étude du fonctionnement des lagunes de la décharge d'Etueffont (Territoire de Belfort, France)

Ahmed Shaker Al Ashoor

▶ To cite this version:

Ahmed Shaker Al Ashoor. Impact des éléments trace métalliques sur le milieu et apport de la cytométrie en flux dans l'étude du fonctionnement des lagunes de la décharge d'Etueffont (Territoire de Belfort, France). Sciences agricoles. Université de Franche-Comté, 2016. Français. NNT: 2016BESA2032. tel-01496693

HAL Id: tel-01496693 https://theses.hal.science/tel-01496693v1

Submitted on $27~\mathrm{Mar}~2017$

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.

"Impact des éléments trace métalliques sur le milieu et apport de la cytométrie en flux dans l'étude du fonctionnement des lagunes de la décharge d'Étueffont (territoire de Belfort, France)"

THÈSE DE DOCTORAT

Présentée à l'UFR des sciences et Techniques pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ de FRANCHE-COMTÉ

Discipline : Sciences de l'environnement

Spécialité : Écotechnologies

PAR

Al ashoor Ahmed SHAKER

Soutenue à Besançon le : 14 Décembre 2016

Membres du Jury:

Michel DENIS (Directeur de Recherche CNRS, Université de la méditerranée II)	Rapporteur
AHMED MUHSEN Athbi (Professeur, Université de Basrah, IRAK) Rapporteur et Pr	ésident du jury
Lotfi ALEYA (Professeur, Université de Bourgogne Franche-Comté) Dir	ecteur de thèse
Jean-Louis DUCREUX (Directeur de l'Atelier d'Écologie Urbaine, Paris)	Examinateur
Nicolas CAPELLI (Maître de conférences HDR, Université de Bourgogne Franche-Comté) Examinateur
Hervé GRISEY (Docteur, Directeur technique hydrogeotechnique)	Examinateur
Alexia LAVALLÉE (Directrice du SICTOM du Pays-sous-vosgien, Étueffont)	Invitée







"Impact des éléments trace métalliques sur le milieu et apport de la cytométrie en flux dans l'étude du fonctionnement des lagunes de la décharge d'Étueffont (territoire de Belfort, France)"

THÈSE DE DOCTORAT

Présentée à l'UFR des sciences et Techniques pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ de FRANCHE-COMTÉ

Discipline : Sciences de l'environnement

Spécialité : Écotechnologies

PAR

Al ashoor Ahmed SHAKER

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le ministère de l'éducation nationale, de l'enseignement supérieur et de la recherche en France et le ministère de la recherche scientifique en Irak.

Cette thèse a été effectuée au sein du laboratoire Chrono-Environnement. Je remercie Daniel Gilbert, directeur du laboratoire de m'avoir accueilli et permis d'effectuer cette étude dans les meilleures conditions. J'aimerais associer à ces remerciements tout le personnel administratif et technique de cette institution pour leur aide et leur gentillesse.

J'adresse mes vifs remerciements à mon encadrant de thèse Lotfi Aleya Professeur à l'Université de Franche-Comté (France) qui a participé activement au bon déroulement de cette thèse. Merci pour tous tes précieux conseils scientifiques, tes relectures, nos nombreuses discussions dans ton bureau, et ton aide tant dans la conception des essais que dans l'interprétation des résultats

Mes remerciements s'adressent aux membres du Jury pour avoir accordé de leur temps à la lecture, à la critique et à l'amélioration de mon travail. Je tiens à exprimer toute ma gratitude à Michel Denis (Directeur de recherche émérite du CNRS de l'Institut Méditerranéen d'Océanologie de l'Université d'Aix Marseille (France) pour l'honneur qu'il m'a fait de présider mon jury, ainsi qu'à Hervé Grisey Docteur, directeur technique Hydrogéotechnique et membre du SICTOM (France) pour avoir accepté de relire ce manuscrit en tant qu'examinateur), Je remercie également Monsieur Nicolas Capelli (Maître de Conférences à l'Université de Franche-Comté (France)), le docteur Jean-Louis Ducreux, Directeur de l'Atelier d'Écologie Urbaine de Paris) et Monsieur Ahmed Athbi, Professeur à l'Université de Basrah (Irak) d'avoir accepté de rapporter et d'examiner ce travail et pour avoir apposé leurs regards d'experts sur mes travaux.

Je souhaiterais adresser mes remerciements à Frédéric Gimbert, Maître de Conférences au laboratoire Chrono-Environnement pour sa grande collaboration lors de la rédaction de l'article sur *Chironomus riparius* et de nouveau merci à Lotfi Aleya pour son aide précieuse dans la rédaction des autres articles.

Un grand merci à Xavier Laffray pour son co-encadrement pour la partie traitant des aspects « Végétaux et échanges gazeux » de ce travail. Malgré l'éloignement, il m'a apporté au cours de ces années tous les éléments nécessaires à l'aboutissement de ce travail. Merci d'avoir assuré toute la partie technique des expérimentations avec le Ciras2 sur la lagune d'Etueffont, ainsi qu'au laboratoire et d'avoir toujours pris de son temps pour m'aider et répondre à mes questions.

Je remercie plus particulièrement Alexia Lavallée (Directrice technique du SICTOM) et ainsi que les personnes de l'Atelier d'Ecologie Urbaine (Nelly Duranton et Gilles Gallinet) pour les prélèvements sur le terrain et leur disponibilité.

Je voudrais également sincèrement remercier aux personnels du laboratoire QUALIO pour l'analyse dirigé par Bernard BOTELLA.

Je remercie également tous mes amis doctorants, post-doctorants : Javier, Lisa, Ahmed, Stéphanie, Thiebaut ainsi que tous mes amis doctorants Irakiens à Besançon, qui m'ont soutenu et ont porté un grand intérêt concernant mes travaux.

Je remercie également mon père, mes frères et mes sœurs pour leur soutien moral durant ces quatre années d'absence.

Enfin, un grand MERCI à ma femme et mes enfants pour leur patience et leur soutien pendant la période de thèse.

ALASHOOR AHMED

Décembre 2016

TABLE DES MATIÈRES

Chapitre 1 Introduction générale

Introduction	1
1.1 Aspects juridiques de la gestion des déchets dans l'Union Européenne	3
1.2 Législation en Europe sur la mise en décharge	4
1.3 Génération des lixiviats	5
1.4 Les gaz des décharges d'ordures ménagères	6
a. Génération de gaz	6
b. La quantité et la qualité de la mise en décharge	8
1.5 Décharge des déchets pollution et contrôle	8
1.6 Les processus physiques, chimiques et biologiques dans la décharge	9
1.6.1 Processus physico-chimiques	9
1.6.2 Processus biochimique	.1
1.7 Organisation du manuscrit1	3

Chapitre 2 Site d'étude : la décharge d'Étueffont

Introduction générale	15
2.1 Site d'étude	16
2.2 La plate forme déchetterie - quai de transfert (PDQT)	18
2.3 Géologie et hydrogéologie du site	19
2.3.1 Contexte géologique.	19
2.3.2 Contexte hydrogéologique.	20
2.4 Structure et état du site et de ses composantes	23
2.4.1 Modelage	23
2.4.2 Recouvrement	23
2.4.3 Merlons	24
2.5 Système de gestion des ruissellements de surface	28
2.5.1 Système de gestion des lixiviats	28
2.5.2 Suivi de l'impact hydrogéologique local	29
2.5.3 Localisation et géo-référencement de tous les points de prélèvement	33
2.5.3.1 Géo- référencement	33

Chapitre 3 Évaluation et composition des lixiviats dans les lagunes

3.1 Introduction	35
3.2 Matériels et méthodes	36
3.2.1 Suivi du système de gestion des lixiviats	36
3.2.2 Procédure d'échantillonnage des lixiviats	36
3.3 Suivi de l'impact hydrologique local	38
3.3.1 Prélèvement de deux échantillons d'eau (Figure 3.3)	38
3.3.2 Stratégie d'échantillonnage des lixiviats bruts	39
3.4 Mesure des paramètres	39
3.4.1 Mesures in situ	39
3.4.2 Mesures en laboratoire	39
3.4.2.1 Matière organique	39
3.4.2.2 Ions majeurs	40
3.4.2.3 Eléments-traces	41
3.5 Résultats	42
3.5.1 Surveillance hydrologique	42
3.5.2 Système de gestion des ruissellements de surface	42
3.5.3 Système de gestion des lixiviats	42
3.5.4 Étude des paramètres physiques	44
3.5.5 Étude de paramètres chimiques	47
3.6 Discussion	64
3.6.1 Lixiviats	64
3.6.2 Métaux dans les lagunes	69
Conclusion	72

Chapitre 4 Contamination métallique des sédiments du site de la décharge d'Étueffont

4.1 Introduction	. 75
4.2 Matériels et méthodes	. 76
4.2.1 Suivi du système de gestion des boues	. 76
4.2.2 Procédure d'échantillonnage du sédiment	. 76
4.2.3 Préparation et analyse des échantillons	. 78
4.3 Résultats	. 79
4.4 Discussion	100

Conclusion104

Chapitre 5 Impact du panache de lixiviats sur la qualité de l'eau souterraine

5.1 Introduction	
5.2 Matériels et méthodes	
5.2.1 Stratégie d'échantillonnage	
5.2.2 Définition du programme de suivi post-exploitation	107
5.2.3 Points d'échantillonnage initiaux	
5.2.3.1 Eau souterraine	
5.2.3.2 Points d'échantillonnage complémentaires	
5.2.4 Programme analytique	
5.3 Résultats	
5.3.1 Étude des paramètres physique (Tableau 5.1)	110
5.3.2 L'eau souterraine contaminée	
5.3.3 Paramètres chimiques dans les piézomètres	
5.3.4 Les espèces 'ioniques	
5.3.5 Les métaux	
5.4 Discussion	
Conclusion	

Chapitre 6 Les effets des métaux lourds sur les échanges gazeux et la fluorescence des chlorophylles dans (*Typha latifolia*)

6.1 Introduction	139
6.2 Matériels et Méthodes	139
6.2.1 Analyse des métaux lourds et métalloïdes	139
6.2.1.1 Echantillonnage du sédiment et des macrophytes	139
6.2.1.2. Préparation des échantillons de macrophytes	139
6.2.1.3. Préparation des échantillons de sédiments	140
6.2.1.4. Analyse des échantillons	140
6.2.1.5. Détermination des paramètres de phytoremédiation	
6.2.1.2. Analyses physiologiques	141

6.3 Résultats
6.3.1 Analyse des métaux lourds et métalloïdes151
6.3.1.1 Contaminations potentielles du sédiment par les métaux lourds151
6.3.1.2. Stockage des métaux et métalloïdes dans les macrophytes et relations avec le sédiment
6.3.2 Mesures physiologiques
6.3.2.1. Paramètres de croissance des plants 159
6.3.2.2. Analyse des pigments
6.4 Discussion
6.4.1 Analyse des sédiments
6.5.2 Stockage des métaux lourds et métalloïdes dans les parties souterraines
6.4.3 Stockage dans les parties aériennes (EC_AG et TLF) 170
6.4.4 Effets des métaux lourds et métalloïdes sur les paramètres morphologiques 173
6.4.5 Effets des métaux lourds et métalloïdes sur la photosynthèse
Conclusions

Chapitre 7 Etude des microorganismes de la décharge d'Etueffont : apport de la cytométrie de flux

7.1 Introduction	
7.2 Matériel & méthodes	180
7.2.1 Etude des paramètres biotiques	180
7.2.1.1 Prélèvement et conservation des échantillons d'eau des lagunes	180
7.2.1.2 Détermination et comptage du microphytoplancton et des ciliés	
7.2.1.3 Identification des procaryotes hétérotrophes et des populations ultraphytoplanctoniques par cytométrie en flux	182
7.2.1.4. Concentration des populations de procaryotes hétérotrophes et ultraphytoplanctoniques	183
7.2.2.4 Principe du fonctionnement du cytomètre en flux	184
7.2.1.5 Les assemblages des procaryotes hétérotrophes	186
7.2.1.6 Les assemblages autotrophes	186
7.2.1.7 Acquisition et traitement des données cytomètriques	186
7.3 Résultats	190
7.3.1 Les conditions environnementales (tableau 7.1)	190
7.3.2 Procaryotes hétérotrophes	191

7.3.3 Ultraphytoplancton	193
7.4 Discussion	
Conclusion	

Chapitre 8 Étude de la bioaccumulation des éléments traces métalliques dans le Chironome (*Chironomus riparius***)**

8.1 Introduction	
8.2 Matériels & méthodes	
8.2.1 Matériel biologique	215
8.2.2 Dispositifs d'exposition	
8.2.3 Fractionnement des larves	219
8.2.4 Analyses chimiques	219
8.2.5 Statistiques	220
8.3 Résultats	
8.4 Discussion	
8.4.1 Contaminations environnementales	231
8.4.1.1 Eau	
8.4.1.2 Sédiments	
8.4.1.3 MES	
8.4.2 Biodisponibilité / bioaccumulation	235
8.4.3 Fractionnement et potentiel toxique des ETM	
Conclusion	

Chapitre 9 Étude de la bioaccumulation des éléments traces métalliques dans les différents tissus du gardon (*Rutilus rutilus*)

0.1 Introduction	
9.2 Présentation du gardon Rutilus rutilus (Linnaeus 1758)	
9.2.1 Systématique	
9.2.2 Morphologie et anatomie (Figure 9.1)	
9.3 Noms vernaculaires	250
9.4 Distribution globale	

9.5 Risques sanitaires, toxicologiques et écotoxicologiques	251
8.6 Matériels et méthodes	252
9.6.1 Technique de dissection	252
9.6.2 Analyse des éléments traces métalliques	253
9.6.3 Le Facteur de Transfert (TF)	254
9.7 Résultats et discussion	
9.7.1 Comparaison des valeurs en ETMs au niveau du muscle du gardon de la pr	ésente étude
par rapport aux valeurs trouvées dans la littérature	258
9.7.2 Le Facteur de Transfert (FT)	258
Conclusions	

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 : schéma de présentation du site et surface des différentes entités (Belle, 2008)19
Figure 2.2 : coupe géologique NO - SE au niveau du site, d'après la carte géologique de Thann au 1/50000- (Belle, 2008)20
Figure 2.3 : localisation de l'ISDND du SICTOM Sous Vosgien (90) – IGN (Géoportail)21
Figure 2.4 : vue panoramique de l'ISDND d'Étueffont (90) dans son environnement général – Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone
Figure 2.5 : périmètre de l'ISDND d'Étueffont (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone
Figure 2.6 : vue des avoisinants du SICTOM Sous Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone
Figure 2.7 : vue des avoisinants du SICTOM Sous Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone
Figure 2.8 : vue sur le merlon arrière de l'ISDND du SICTOM Sous Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone
Figure 2.9 : vue sur le merlon arrière et latéral Sud de l'ISDND du SICTOM Sous Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone
Figure 2.10 : Vue sur le merlon frontal l'ISDND du SICTOM Sous Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone
Figure 2.11 : vue sur le merlon latéral sud l'ISDND du SICTOM Sous Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone
Figure 2.12 : vue aérienne 1/2 de détail (Nord-Ouest) sur la végétalisation du massif de déchet de l'ISDND du SICTOM Sous Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone
Figure 2.13 : vue aérienne 2/2 de détail (Sud-Est) sur la végétalisation du massif de déchet de l'ISDND du SICTOM Sous Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone
Figure 2.14 : bassins de gestion des ruissellements - Etat de végétalisation -Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone
Figure 2.15 : vue aérienne des Lagunes de l'ISDND du SICTOM Sous Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone – 30 Octobre 2013

Figure 2.16 : plan de situation des piézomètres et réseau hydrographique sur fond de carte topographique (Belle, 2008)
Figure 2.17 : implantation sur image Google Earth et orthophotographie drone des piézomètres
Figure 2.18 : implantation sur image satellite Google Earth et orthophotographie drone des piézomètres
Figure 3.1 : chronologie de différentes campagnes de prélèvements des lixiviats
Figure 3.2 : implantation sur image satellite Google Earth des prélèvements d'eau des lagunes et lixiviats en sortie de massif de déchets
Figure 3.3 : implantation sur image satellite Google Earth des prélèvements d'eau dans les ruisseaux Gros Prés et Mont Bonnet
Figure 3.4 : variation saisonnière de la température dans l'eau superficielle et les lixiviats45
Figure 3.5 : variation saisonnière du pH dans l'eau superficielle et les lixiviats
Figure 3.6 : variation saisonnière de la conductivité électrique dans l'eau superficielle et les
lixiviats
Figure 3.7 : variation saisonnière de la Demande Biologique en Oxygène (DBO5) dans l'eau
superficielle et les lixiviats
Figure 3.8 : variation saisonnière de la Demande Chimique en Oxygène (DCO) dans l'eau
superficielle et les lixiviats
Figure 3.9 : variation saisonnière en bicarbonates dans l'eau superficielle et les lixivia49
Figure 3.10 : variation saisonnière en nitrates dans l'eau superficielle et les lixiviats51
Figure 3.11 : variation saisonnière de nitrites dans l'eau superficielle et les lixiviats
Figure 3.12 : variation saisonnière en azote ammoniacal dans l'eau superficielle et les
lixiviats
Figure 3.13 : variation saisonnière en azote Kjeldahl dans l'eau superficielle et les lixiviats
Figure 3.14 : variation saisonnière en fluorures dans l'eau superficielle et les lixiviats
Figure 3.15 : variation saisonnière en sulfates dans l'eau superficielle et les lixiviats55
Figure 3.16 : variation saisonnière en chlorures dans l'eau superficielle et les lixiviats55

Figure 3.17 : variation saisonnière d'aluminium dans l'eau superficielle et les lixiviats57
Figure 3.18 : variation saisonnière du Bore dans l'eau superficielle et les lixiviats
Figure 3.19 : variation saisonnière en manganèse dans l'eau superficielle et les lixiviats58
Figure 3.20 : variation saisonnière en sodium dans l'eau superficielle et les lixiviats61
Figure 3.21 : variation saisonnière en calcium dans l'eau superficielle et les lixiviats61
Figure 3.22 : variation saisonnière en magnésium dans l'eau superficielle et les lixiviat62
Figure 3.23 : variation saisonnière en potassium dans l'eau superficielle et les lixiviats62
Figure 4.1 : chronologie des différentes campagnes de prélèvement des sédiments76
Figure 4.2 : implantation sur image satellite Google Earth des prélèvements de boue77
Figure 4.3: variations spatiotemporelles des concentrations de Matière Sèche
(exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes.81
Figure 4.4: variations spatiotemporelles des concentrations en calcium
(exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes.81
Figure 4.5: variations spatiotemporelles des concentrations en magnésium
(exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes82
Figure 4.6: variations spatiotemporelles des concentrations en sodium
(exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes
Figure 4.7: variations spatiotemporelles des concentrations en potassium
(exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes
Figure 4.8: variations spatiotemporelles des concentrations en aluminium
(exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes
Figure 4.9: variations spatiotemporelles des concentrations en arsenic
(exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes
Figure 4.10: variations spatiotemporelles des concentrations en cadmium

(exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes
Figure 4.11: variations spatiotemporelles des concentrations en chrome
(exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes
Figure 4.12: variations spatiotemporelles des concentrations en cuivre
(exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes
Figure 4.13: variations spatiotemporelles des concentrations en nickel
(exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes
Figure 4.14: variations spatiotemporelles des concentrations en zinc (exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes
Figure 4.15: variations spatiotemporelles des concentrations en fer (exprimées en g kg-1 MS)
dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes91
Figure 4.16: variations spatiotemporelles des concentrations en étain (exprimées en mg kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes
Figure 4.17: variations spatiotemporelles des concentrations en bore (exprimées en mg kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes
Figure 4.18: variations spatiotemporelles des concentrations en plomb (exprimées en mg kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes
Figure 4.19: variations spatio-temporelles des concentrations en chlorures
(exprimées en mg kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes
Figure 4.20: variations spatio-temporelles des concentrations en sulfates (exprimées en mg kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes
Figure 4.21: variations spatiotemporelles des concentrations en carbone organique total (exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes
Figure 4.22: variations spatiotemporelles des concentrations en bicarbonates (exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes

Figure 4.23: variations spatiotemporelles des concentrations en azote ammoniacale (exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes99
Figure 4.24: variations spatiotemporelles des concentrations en azote Kjeldahl (exprimées en g kg-1 MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes
Figure 5.1: chronologie des différentes campagnes de prélèvements des sédiments107
Figure 5.2 : implantation sur image Google Earth et orthophotographie drone des prélèvements d'eau dans les piézomètres
Figure 5.3 : implantation sur image satellite Google Earth et orthophotographie drone des prélèvements d'eau dans les piézomètres
Figure 5.4 : variation saisonnière en indice HCT C10-C40 dans les différents piézomètres
Figure 5.5: variation saisonnière en indices cyanures dans les différents piézomètres114
Figure 5.6: variation saisonnière des indices phénols dans les différents piézomètres
Figure 5.7: variation saisonnière en DCO dans les différents piézomètres116
Figure 5.8: variation saisonnière en DBO5 dans les différents piézomètres116
Figure 5.9: variation saisonnière en COT dans les différents piézomètres117
Figure 5.10 : variation saisonnière en nitrate dans les différents piézomètres
Figure 5.11 : variation saisonnière en nitrite dans les différents piézomètres119
Figure 5.12 : variation saisonnière en azote kjeldahl dans les différents piézomètres120
Figure 5.13 : variation saisonnière en phosphore total dans les différents piézomètres120
Figure 5.14 : variation saisonnière en fluorures dans les différents piézomètres121
Figure 5.15 : variation saisonnière en matières en suspension totales dans les différents
piézomètres121
Figure 5.16 : variation saisonnière en arsenic dans les différents piézomètres124
Figure 5.17 : variation saisonnière en cadmium dans les différents piézomètres124
Figure 5.18 : variation saisonnière en chrome dans les différents piézomètres125
Figure 5.19 : variation saisonnière en cuivre dans les différents piézomètres125
Figure 5.20 : variation saisonnière en mercure dans les différents piézomètres126

Figure 5.21 : variation saisonnière en nickel dans les différents piézomètres126
Figure 5.22 : variation saisonnière en plomb dans les différents piézomètres127
Figure 5.23 : variation saisonnière en Zinc dans les différents piézomètres
Figure 6.1: Vue schématique de la conversion d'énergie primaire et le transport d'électrons primaires dans la photosynthèse
Figure 7.1: procédure de sédimentation181Figure 7.2: deux cuves de sédimentation de 20 et 10 ml181
Figure 7.3: microscope inversé de type Leica182Figure 7.4: méthode de comptage d'Uthermöhl182
Figure 7.5 : principe de fonctionnement du cytomètre en flux
Figure 7.6: cytogrammes typiques de la résolution des groupes de cellules ultraphytoplanctoniques (A et B) et des cellules procaryotes hétérotrophes(C)187
Figure 7.7: résolution de groupes de procaryotes hétérotrophes typiques par cytométrie en flux. La fluorescence verte par rapport à la dispersion latérale indique un lien avec la structure cellulaire. L'histogramme représente les groupes HNA et LNA après coloration au SYBR Green. a.u. : unité arbitraire. R5: HNA1; R6 : HNA2; R7 : LNA1; R9 : autres picohétéretrophes; R10: LNA2
Figure 7.8 : analyse de redondance (RDA) de l'abondance des assemblages de procaryotes hétérotrophes en relation avec les piézométries, la décharge et les lagunes. Les valeurs propres
des deux premiers axes sont indiquées par $\lambda 1$ et $\lambda 2$
Figure 7.9 : analyse de redondance (RDA) de l'abondance des assemblages de procaryotes hétérotrophes en relation avec les périodes d'échantillonnage (avril et novembre). Les valeurs propres des deux premiers axes sont indiquées par $\lambda 1$ et $\lambda 2$
Figure 7.10 : analyse de redondance (RDA) de l'abondance des assemblages de procaryotes hétérotrophes abondances en relation avec les fluorures et pH. Les valeurs propres des deux premiers axes sont indiquées par $\lambda 1$ et $\lambda 2$
Figure 7.11: résolution des groupes d'ultraphytoplanctons typiques par cytométrie en flux. La fluorescence rouge et orange des cytogrammes permet une résolution parfaite de groupes d'ultraphytoplanctons. a.u.: unité arbitraire. R3 : Perles Trucount (Becton Dickinson); R4 : Perls 2 µm; R5 : nanoeucaryotes 1; R6: picoeucaryotes; R7 : nanoeucaryotes 2 ; R8 : nanoeucaryotes 3 ; R10: nanocyanobactéries 1 ; R11: nanocyanobactéries 2
Figure 7.12 : analyse de redondance (RDA) de l'abondance des assemblages des groupes d'ultraphytoplanctons en relation avec les piézomètres, la décharge et les lagunes. Les valeurs propres des deux premiers axes sont indiquées par $\lambda 1$ et $\lambda 2$

Figure 7.13 : analyse de redondance (RDA) de l'abondance des assemblages des groupes d'ultraphytoplanctons en relation avec les périodes d'échantillonnage (avril et novembre). Les valeurs propres des deux premiers axes sont indiquées par $\lambda 1$ et $\lambda 2$
Figure 7.14 : analyse de redondance (RDA) de l'abondance des assemblages des groupes d'ultraphytoplanctons en relation avec la température et le pH. Les valeurs propres des
deux premiers axes sont indiquées par $\lambda 1$ et $\lambda 2$
Figure 8.1 : cycle de vie des Diptères Chironomidae et durée des quatre stades biologiques en conditions contrôlées optimales de développement pour l'espèce Chironomus riparius. D'après Oliver, 1971
Figure 8.2 : a) systèmes d'exposition des larves de C. riparius; CTRL (à droite) SWISS (à gauche). b) Plan d'échantillonnage appliqué au premier bassin de collecte des lixiviats de décharge; Cages CTRL (cercles bleus), Cages SWISS (cercles rouges), pièges à MES (cercles noires)
Figure 8.3 : croissance des larves de C. riparius au cours de l'exposition ; l'évolution de la taille des individus CTRL (Vert pointillés) et SWISS (vert trait plein) est exprimée en mm ; l'évolution de la masse des individus CTRL (jaune pointillés) et SWISS (vert)223
Figure 8.4 : cinétiques d'accumulation des différents ETM considérés au sein des différentes fractions étudiées : H (bleu), P (vert), S (violet) et en fonction du traitement appliqué aux larves : CTRL (pointillés), SWISS (traits continus)
Figure 8.5 : fractionnement des différents ETM en fonction du traitement, des fractions P (vert foncé) et S (vert clair) et du temps (Calculé sur la base du H théorique soit moyenne ([S] + [P]))
Figure 9.1: morphologie du gardon Rutilus rutilus
Figure 9.2 : distribution mondiale de R. rutilus. Carte du GBIF (2010)251
Figure 9.3 : emplacement des incisions
Figure 9.4 : vue latérale gauche résumant la position des principaux organes / appareils chez le gardon

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 : caractéristiques morphométriques des quatre lagunes de la station d'Etueffont.29
Tableau 2.2 : synthèse des coordonnées GPS des points de prélèvements
Tableau 2.3 : caractéristiques des piézomètres
Tableau 3.1 : teneurs en éléments nutritifs des différents échantillons du lixiviat dans les différentes lagunes du site de la décharge d'Étueffont entre octobre 2013 et avril 2016, (moyenne ± écart-type) exprimés en mg .l-1 pour le fer et µg .l -1 pour les autres éléments63
Tableau 4.1 : les analyses boues réalisées en laboratoire sur le système de gestion des lixiviats
Tableau 4.2: teneurs en ETMs des différents échantillons de sédiment dans les lagunes du site de la décharge d'Étueffont entre octobre 2013 et avril 2016, (moyenne ± écart-type) exprimés en mg kg-1 MS
Tableau 5.1 : variations spatiotemporelles des températures (°C), pH et conductivité (µs.cm-1) dans les différents piézomètres
Tableau 5.2 : concentration des différents paramètres (moyenne \pm type écart) au niveau des
piézomètres (octobre 2013 - avril 2016)
Tableau 6.1 : paramètres visualisables sur l'interface d'acquisition
Tableau 6.1 : paramètres visualisables sur l'interface d'acquisition
Tableau 6.1 : paramètres visualisables sur l'interface d'acquisition
Tableau 6.1 : paramètres visualisables sur l'interface d'acquisition
Tableau 6.1 : paramètres visualisables sur l'interface d'acquisition143Tableau 6.2 : Concentrations des métaux et métalloïdes dans le sédiment de 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont152Tableau 6.3 : Concentrations des métaux et métalloïdes dans les parties souterraines (BG) de T. latifolia prélevés dans les 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont154Tableau 6.4 : Concentrations des métaux et métalloïdes dans les parties aériennes (AG) de T. latifolia prélevés dans les 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont156Tableau 6.5 : Coefficients d'enrichissement (EC) des parties souterraines de T. latifolia prélevés dans les 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont157
Tableau 6.1 : paramètres visualisables sur l'interface d'acquisition
Tableau 6.1 : paramètres visualisables sur l'interface d'acquisition143Tableau 6.2 : Concentrations des métaux et métalloïdes dans le sédiment de 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont152Tableau 6.3 : Concentrations des métaux et métalloïdes dans les parties souterraines (BG) de T. latifolia prélevés dans les 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont154Tableau 6.4 : Concentrations des métaux et métalloïdes dans les parties aériennes (AG) de T. latifolia prélevés dans les 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont154Tableau 6.4 : Concentrations des métaux et métalloïdes dans les parties aériennes (AG) de T. latifolia prélevés dans les 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont156Tableau 6.5 : Coefficients d'enrichissement (EC) des parties souterraines de T. latifolia prélevés dans les 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont157Tableau 6.6 : Coefficients d'enrichissement (EC) des parties aériennes de T. latifolia prélevés dans les 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont158Tableau 6.7 : Coefficients d'enrichissement (TLF) des parties souterraines vers les parties aériennes de T. latifolia prélevés dans les 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont159

Tableau 6.9 : Variations des concentrations en pigments photosynthétiques des Typha latifoliaen croissance au sein des quatre bassins de la lagune d'Etueffont
Tableau 6.10 : Variations des caratéristiques photosynthétiques des Typha latifolia encroissance au sein des quatre bassins de la lagune d'Etueffont
Tableau 6.11: Variations des caractéristiques de fluorescence des Typha latifolia encroissance au sein des quatre bassins de la lagune d'Etueffont
Tableau 7.1 Environmental parameters registered in the different sites during April andNovember 2014.195
Tableau 7.2 Heterotrophic prokaryote abundances and biomass observed during the firstsampling of April 2014. HNA: high nucleic acid; LNA: low nucleic acid
Tableau 7.3 Heterotrophic prokaryote abundances and biomass observed during the second sampling of November 2014. HNA: high nucleic acid; LNA: low nucleic acid
Tableau 7.4 Ultraphytoplankton abundances observed during the first sampling of April 2014.NE: nanoeukaryotes; PE: picoeukaryotes; NC: nanocyanobacteria
Tableau 7.5 Ultraphytoplankton abundances observed during the first sampling of November2014.NE: nanoeukaryotes; PE: picoeukaryotes; NC: nanocyanobacteria
Tableau 8.1 : récapitulatif des concentrations en ETM présentes au sein des différentes sources de contamination potentielles .222
Tableau 8.2 : récapitulatif des relations statistiques (pour la fraction H) entre les différentes phases cinétiques décrites pour chaque ETM et en fonction des différents traitements226
Tableau 8.3 : récapitulatif des taux de recouvrement entre Hcalculé et Hmesuré moyen(Hcalculé = moyenne ([S]+ [P]))
Table 8.4 : récapitulatif des concentrations seuils et de références pour la protection desmilieux aquatiques dans le cadre d'un transfert par l'eau (PNEC : Predicted No EffectConcentration, NOEC : No Effect Concentration, NQE : Normes de QualitéEnvironnementale, et Réf. : correspondant aux diverses valeurs recensés dans la bibliographieinternationale, CVAC : Critère de Vie Aquatique Chronique
Table 8.5 : récapitulatif des concentrations seuils et de références pour la protection des milieux aquatiques dans le cadre d'un transfert de contaminant par le biais des sédiments (PEC : Predicted Effect Concentration, TEC : Treshold Effect Concentration et milieux de ref correspondant aux concentrations moyennes observées dans les milieux non contaminé234
Table 8.6 : récapitulatif des concentrations de références au sein des MES définies par Thomas et Meybeck (1992) à partir d'études effectuées sur des rivières réputées comme non contaminées

Tableau 9.1 : concentration des ETMs au niveau des différents tissus du gardon R. rutilus
prélevé au niveau de la quatrième lagune (en avril et juin 2016) du site de la décharge
d'Étueffont (Moyen ± écart-type) exprimée en mg kg-1 MS (Matière Sèche)260
Tableau 9.2 : concentration en Cd, Cu, Ni et Zn (exprimée en mg kg-1 MS) au niveau du muscle de R. rutilus en comparaison avec des concentrations trouvées dans la littérature260
Tableau 9.3 : facteur de transfert (avril 2016) des métaux dans les différents tissus de R.
rutilus

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ISDND Installation de Stockage de Déchets Non Dangere	eux
---	-----

SICTOM Syndicat intercommunal de collecte et de traitement des ordures ménagères

ETMs	Éléments Traces Métalliques		
AD	Ancienne Décharge		
NC	Nouveau Casier		
MB	Mont Bonnet		
GP	Gros Prés		
SC	Sous casier		
PZ	piézomètres		
PDQ1	Plateforme de la Déchetterie et du Quai de Transfert		
L1	Lagune 1		
L2	2 Lagune 2		
L3	Lagune 3		
L4	Lagune 4		
DBO	DBO Demande Biologique en Oxygène		
DCO	Demande Chimique en Oxygène		
СОТ	Carbone Organique Total		
MEST Matières en Suspension Totales			
НСТ	Indix Hydrocarbonates Total		
Pvt	prélèvements		
EC	Coefficient Enrichissement		

BG	parties racinaires (de la T. latifolia)
AG	parties aériennes (de la T. latifolia)
TLF	Facteur de Translocation
Chl	Chlorophylles
PQ	Plastoquinones
PSII	Photosystème II
Phéo	Phéophytine
PC	Plastocyanin
HP	Hétérotrophes
LNA	Low Nucleic Acid Content
HNA	High Nucleic Acid Content
NE	Nanoeucaryotes
PE	Picoeucaryotes
NC 1	Nano-Cyanobactéries
TF	Facteur de Transfert
ANO	VA Analyse de la Variance
CHG	Green House Gas
MSW	municipal solid waste

Chapitre 1 Introduction générale

Introduction

L'ISDND d'Étueffont constitue une masse de déchets (300 000 tonnes environ) déposés dans l'environnement. La maîtrise de l'impact environnemental d'une telle masse de déchets est assurée par des barrières actives (réseau de drainage des lixiviats par exemple), des barrières passives (complexes d'étanchéité, niveaux géologiques sous-jacents, merlons, recouvrements), des dispositifs de gestion des flux (lagunage pour les lixiviats, fossés et bassins pour les eaux pluviales, évents / piézogaz pour les biogaz), des dispositifs de protection (clôtures), des dispositifs de surveillance (piézomètres pour les eaux souterraines et évents / piézogaz pour les biogaz), des éléments de reconquête écologique et d'intégration dans le paysage (modelé de terrain, végétalisation, écosystèmes épurateurs).

L'ensemble de ces constituants permettant la maitrise de l'impact environnemental de la masse de déchets est en théorie à surveiller, de manière directe ou indirecte. Certains sont très simples à suivre et surveiller, un simple regard de quiconque suffit, d'autres nécessitent le regard d'un spécialiste, et d'autres enfin nécessitent des investigations et prélèvements. De nombreux constituants ne peuvent être appréciés directement (cas des complexes d'étanchéité en fond de casier, exemple parmi d'autres) et vont demander une approche indirecte (le suivi hydrochimique des nappes souterraines dans l'exemple précité).

La mise en décharge des déchets ménagers est pratiquée depuis des siècles. De mise en œuvre aisée, cette technique autorise une élimination efficace et peu coûteuse des résidus urbains. La décharge d'ordures ménagères du SICTOM du pays sous Vosgien a eu un mode d'exploitation par régalage des déchets sans compactage, après broyage pour faciliter la dégradation aérobie prolongée, due à la faible densité des déchets. Dans ce type de décharge, l'eau joue un rôle primordial et la fermentation anaérobie est très limitée. Les lixiviats sont fortement chargés en substances organiques, facilement biodégradables et leur évolution tend vers une composition plus minérale, et ceci avec des émanations gazeuses diffuses. En outre, il faut prendre en considération le fait que la fermentation des déchets organiques peut durer de 20 à 30 ans.

Les écoulements de lixiviats sont importants sur ce type de décharge et un déversement direct dans le réseau hydrographique peut être préjudiciable en cas de dysfonctionnement. Si le substratum possède des perméabilités fortes, une pollution de la nappe peut s'observer et les risques peuvent être continus jusqu'à la stabilisation des déchets.

L'un des principaux problèmes de pollution causés par les décharges de déchets solides municipaux (MSW) est le lixiviat de décharge, généré à la suite de précipitations, des eaux de ruissellement et l'infiltration ou l'intrusion d'eau souterraine qui passe à travers le site.

Après fermeture d'un site d'enfouissement, une décharge continuera à produire des lixiviats contaminés et ce processus peut prdurer de nombreuses années. Généralement, le lixiviat peut contenir de grandes quantités de matière organique, de l'ammoniac, des métaux lourds (fer, zinc, plomb, cuivre, ..), des sels organiques et inorganiques, (chlorés, sulfate, sodium, chlorure,....), qui sont une menace pour les sols, les eaux souterraines environnantes et même l'eau de surface (**Renou et al., 2008**).

Le lixiviat de décharge a le potentiel de contaminer les eaux souterraines et l'approvisionnement en eau de surface, et de menacer la santé humaine lors de la migration de la décharge ou le développement des terres environnantes et de l'eau. Avec la croissance de la population et le développement de l'industrie, le lixiviat de décharge représente un problème de plus en plus sérieux.

Quatre catégories d'effets sur la santé peuvent généralement être identifiées à partir de déchets des sites d'élimination mal conçus et exploités:

- Un préjudice physique direct découlant de l'effondrement des pentes instables des déchets, des explosions et des incendies, l'asphyxie et les accidents de transport liés aux déchets.
- Les pathogènes bactériologiques, les protozoaires et agents infectieux issus de la contamination biologique des déchets ainsi que leur transmission infectieuse potentielle à un hôte. Les voies de transmission via la main-à-la bouche et la main-à-la chaîne alimentaire sont les plus fréquents pour les travailleurs et les charognards. La contamination de l'approvisionnement en eau est également susceptible d'affecter le grand public.
- La transmission des contaminants chimiques à partir de déchets peut affecter des organes cibles. L'augmentation du nombre de cancers est aussi une possibilité théorique.

L'impact des contaminants chimiques ou microbiologiques sur les activités en matière de reproduction, notamment de mortinaissance, de faible poids de naissance, ou des malformations congénitales spécifiques, sont également connus. Il y a également eu des incidents pour la santé voire la mort après exposition à certains composés organiques, voire radioactifs.

Généralement, le meilleur moyen de contrôler l'environnement contre les lixiviat est leur traitement afin de supprimer les composants dangereux avant qu'ils ne pénètrent dans le système d'eau. Une fois que le lixiviat pénètre dans les plans d'eau, la décontamination est très coûteuse et difficile. Il existe deux stratégies de gestion du lixiviat utilisées par les processus de remorquage de décharges municipales modernes la recirculation et le simple lessivage de passe (**Scott JE**, **1994**).

1.1 Aspects juridiques de la gestion des déchets dans l'Union Européenne

Les principaux objectifs de la gestion des déchets pour l'UE définis conformément à la directive cadre (DIRECTIVE DU CONSEIL 1999/31 / CE, 1999) sont rappelés ci-dessous.

Protéger les hommes et l'environnement.

Économiser les ressources (matériaux, énergie ou espace).

Les produits de recyclage ne doivent pas causer un risque plus élevé pour l'environnement que les matériaux primaires.

Éliminer les déchets sans que cela ait un impact sur les générations futures.

La gestion des déchets n'est pas aussi avancée dans toutes les régions du monde, surtout par le fait que les déchets doivent être éliminés d'une manière qui ne laisse pas de fardeau pour les générations futures. Dans les pays industrialisés et en particulier en Europe, la gestion des déchets est assez sophistiquée. Les décharges sont dimensionnées pour que leurs émissions soient respectueuses de l'environnement, mais aussi afin d'assurer que l'espace utilisé est aussi petit que possible, pour garantir la sécurité à long terme des personnes. Cela implique des niveaux élevés de recyclage, le compostage et l'incinération dans la plupart des Etats membres. En conséquence, les objectifs de gestion des déchets désignés sont atteints pour la majeure partie de l'UE. (DIRECTIVE DU CONSEIL 1999/31 / CE, 1999).

1.2 Législation en Europe sur la mise en décharge

La directive du Conseil 99/31 / CE du 26 Avril 1999 sur la mise en décharge des déchets vise à fournir :

"Des mesures, procédures et orientations visant à prévenir ou à réduire autant que possible les effets négatifs sur l'environnement, notamment la pollution des eaux de surface, des eaux souterraines, du sol et de l'air, et sur l'environnement mondial, y compris l'effet de serre, ainsi que tout risque pour la santé humaine, de la mise en décharge des déchets, pendant tout le cycle de vie de la décharge qui en résulte. "(DIRECTIVE DU CONSEIL 1999/31 / CE, 1999).

Elle classe trois différents types de décharge.

- Les décharges pour déchets dangereux.
- Les décharges pour déchets non dangereux.
- Les décharges pour déchets inertes.

Les décharges pour déchets non dangereux sont destinées aux déchets solides municipaux, les déchets stables, les déchets dangereux non réactifs préalablement solidifiés ou vitrifiés dont les émissions présentent des caractéristiques différentes de MSW. Les types de déchets suivants sont bannis des sites d'enfouissement: les déchets liquides, les déchets explosifs, corrosifs, comburants ou inflammables, les déchets cliniques infectieux, les pneus usagés. Aussi toute dilution de ces déchets pour répondre aux critères est interdite. Les demandes de permis de mise en décharge doivent fournir des informations sur l'identité de l'exploitant, le type et la quantité totale des déchets, la capacité et une description du site d'enfouissement, les moyens prévus pour prévenir une pollution éventuelle ainsi qu'un plan de contrôle, de fermeture et de suivi. Les gouvernements nationaux doivent également veiller à ce que le demandeur possède les moyens financiers pour prévoir une période de suivi d'au moins 30 ans ou aussi longtemps que nécessaire par l'autorité compétente.

Bien que cette directive doive harmoniser la gestion des déchets dans l'Union Européenne, les coûts de mise en décharge diffèrent encore fortement entre les différents pays membres, ce qui

favorise l'exportation de déchets vers les pays dont le coût de la vie est plus faible. (DIRECTIVE DU CONSEIL 1999/31 / CE 1999, Comité des Régions de l'Union européenne, 2006).

1.3 Génération des lixiviats

Dès que les déchets sont déversés, ils deviennent partie intégrale du système hydrologique de la décharge. La plupart des déchets n'est pas inerte et, comme tels, consomment de l'oxygène lors de leur dégradation. Cela modifie le potentiel redox du liquide et oblige les matériaux solubles à être lavés par un procédé physique. L'eau est également produite dans les processus biochimiques tel que la biodégradation des déchets organiques. En outre, les précipitations ou les eaux souterraines infiltrent la décharge et percolent à travers les déchets. Cette eau peut fournir un support pour les déchets organiques qui se dégradent alors à un rythme plus rapide.

Au total, trois étapes caractérisent l'activité de décomposition des déchets dans une décharge:

L'hydrolyse

La phase acidogène

La phase méthanogène

Lors de la première étape, la matière organique est décomposée en aérobiose à travers plusieurs réactions d'hydrolyse. L'oxygène présent dans les déchets est consommé. Idéalement, les déchets sont compactés et dans une cellule fermée, aucun oxygène frais ne peut être fourni. Lorsque l'oxygène est épuisé, il est remplacé par du nitrate (NO₃⁻), le manganèse (MnO₂), le fer (Fe (OH)₃) et du sulfate (SO₄²⁻). Les conditions anaérobies sont normalement atteintes en moins d'un mois. Dans l'étape d'hydrolyse, certains produits intermédiaires comme des acides aminés, des acides gras, du sucre, de la glycérine sont formés. Peu ou pas de lixiviat est produit, cette phase n'est pas déterminante pour la qualité des lixiviats. L'étape d'hydrolyse est exothermique ce qui signifie que beaucoup d'énergie est générée et la mise en décharge se réchauffe. Si la chaleur est maintenue, cela se traduit par une accélération des deux étapes suivantes.

Dans la phase acidogène, la cellulose et d'autres composés putrescibles sont hydrolysés en composés organiques solubles. Ces produits sont fermentés en acides gras volatils (acide propionique, l'acide butyrique) et alcools. Dans l'acétogénèse ils sont en outre convertis en acide acétique, en CO_2 et en H₂. Lorsque le potentiel de réactions d'oxydo-réduction diminue, le sulfate (SO_4^{2-}) est réduit en sulfures qui, peut alors faire précipiter le fer, le manganèse et les métaux

lourds, préalablement dissous par la fermentation acide. Plus la quantité de déchets putrescibles est élevée, plus la phase acidogène peut durer et plus la nourriture produite sera importante pour les méthanogènes (bactéries qui produisent du méthane) lors de la troisième phase. D'autre part, en raison de la concentration élevée en acides gras libres dans le lixiviat et aux pressions partielles en CO_2 élevées, la valeur du pH de la solution de lixiviation diminue de 5 ou 6 unités. On observe également des quantités élevées d'ammoniac (NH₃), de carbone organique total (COT), de demande biochimique en oxygène (DBO habituellement > 10 000 mg. l⁻¹) et des ratios DBO5 / DCO (généralement > 0,7).

À la limite entre la phase acidogène et la phase méthanogène se trouve une phase anaérobiose intermédiaire. La concentration de méthane (CH₄) commence lentement à augmenter, tandis que H₂, CO₂ et les acides gras volatils (AGV) sont en baisse. Le pH augmente et moins de calcium, de fer, de manganèse et de métaux lourds sont lavés. Au cours du processus de dégradation des déchets, la décharge se caractérise par des conditions anaérobies et la présence de bactéries méthanogènes. Dans la phase méthanogène, la synthèse de CO₂ et CH₄ augmentent tandis que la teneur en composés organiques diminue. Le CO₂ dissous dans l'eau produit de l'acide carbonique (H_2CO_3) qui peut ensuite se dissocier en anion bicarbonate (HCO_3^{-1}). Ce dernier est généralement présent en concentrations élevées dans le lixiviat généré lors de la phase méthanogène. D'autre part, le lixiviat a des valeurs assez faibles de DBO, de faibles ratios de DBO / DCO, un faible TDS ainsi qu'un faible taux en acides volatils. Même si la quasi-totalité des composés organiques a été dissoute dans les lixiviats, la stabilisation des déchets ne sera pas terminée avant quelques décennies. L'ammoniac est encore libéré de zones dans les déchets, où la scène acidogène n'a pas été achevée, ainsi que durant la troisième phase. La valeur du pH est presque neutre et les métaux sont immobilisés sous forme de sulfures dans les déchets car les réactions redox sont arrêtées. La vitesse à laquelle la phase méthanogène est atteinte est contrôlée par un certain nombre de facteurs, y compris le contenu en déchets facilement putrescibles. (Taylor et Allen 2006; Stuart et Klinck, 1998).

1.4 Les gaz des décharges d'ordures ménagères

a. Génération de gaz

La deuxième émission importante des décharges après le lixiviat est le gaz de décharge. Il se compose de 50 à 54% de méthane (CH_4) de 40 à 46% de dioxyde de carbone (CO_2) et des

composants mineurs tels que de l'hydrogène sulfuré, de l'ammoniac ou de composés organiques volatils. Le gaz de décharge est généré par la décomposition des matières organiques. Comme mentionné ci-dessus, la biodégradation anaérobie des MSW comporte trois étapes lors de la mise en décharge: l'étape d'hydrolyse durant laquelle les bactéries hydrolysent les composés organiques solubles en produits tels que le glucose; la phase acidogène dans laquelle le glucose est transformé en acides organiques simples, du CO_2 et de l'hydrogène selon la réaction ci-dessous:

 $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$

Le méthane, un gaz à effet de serre 25 fois plus actif sur le réchauffement climatique que le CO_2 , est produit lors de la troisième phase / méthanogène selon l'une des réactions suivantes:

$CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$

De l'acide acétique ou éthanoïque, du méthane et le dioxyde de carbone sont produits.

$$CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$$

Du dioxyde de carbone de l'hydrogène, du méthane et de l'eau sont produits. La production de méthane souligne clairement les fortes conditions réductrices de la décharge (**Taylor and Allen**, **2006**). Pour calculer le montant maximal de gaz d'enfouissement produit, l'équation suivante peut être utilisée.

 $C_6H_{12}O_6 + 1, 5H_2O \rightarrow 3, 25CH_4 + 2, 75CO_2$

Le méthane est le deuxième plus grand GHG après le CO_2 mais comme mentionné ci-dessus, beaucoup plus problématique quand il vient à influencer réellement le climat. Le méthane représente 16% des émissions mondiales de GHG, 21% de ce méthane provient de décharges de déchets même si d'autres sources (**Wang-Yao, et al., 2006**) indiquent que seulement 7 à 8% des émissions totales de méthane proviennent effectivement de décharges. Le méthane provenant des décharges est ainsi la troisième plus grande émission anthropique de méthane au niveau mondial, juste après les rizières et les ruminants (**Wang-Yao, et al., 2006**). b. La quantité et la qualité de la mise en décharge

La quantité et la qualité des gaz de décharge produits dépend des d'un grand nombre de facteurs (**Maciel et Juca 2003**), des conditions d'exploitation de la décharge et son de gation. Elle dépend en outre de la composition et de la densité des déchets, de la façon dont la décharge est entretenue. La teneur en humidité, la température et le pH des déchets sont tout aussi décisifs. L'âge des déchets déposés, leur phase de décomposition, et enfin, les conditions de milieu pour les micro-organismes qui dégradent les déchets organiques sont également un problème. En résumé:

Profondeur de la décharge \rightarrow normalement processus anaérobies dominants en profondeur supérieure à 5 m.

Type de déchets \rightarrow la composition des déchets affecte le taux, la qualité et la quantité de gaz produit.

Opérations du site \rightarrow le compactage des déchets et le comblement rapide réduisent la dégradation aérobie.

Densité des déchets \rightarrow la production de gaz est proportionnelle à la quantité de déchets.

Humidité contenue \rightarrow l'augmentation de la teneur en humidité par recirculation (40-60%), accélère la production de gaz

Masse et pH des déchets \rightarrow le pH optimal pour le processus anaérobie est compris entre 6,8 et 7,4.

Température des déchets \rightarrow La température optimale est comprise entre 35 et 45 ° C.

Entrées d'oxygène \rightarrow présence d'oxygène pendant la phase anaérobie de retarder la génération décharge.

1.5 Décharge des déchets pollution et contrôle

Pendant longtemps, l'élimination des déchets dans la terre a été la principale méthode d'élimination. Depuis la fin du XIXe siècle, le volume et la nature dangereuse des déchets générés ont considérablement augmenté, et ont conduit à la nécessité d'un examen spécifique avant leur élimination au niveau des décharges.

Le terme de « décharge » a été défini (ISWA, 1992) comme « Le dépôt d'ingénierie de déchets sur et dans la terre d'une manière telle que la pollution ou les dommages à l'environnement sont empêchés et, grâce à la restauration, un terrain fourni qui peut être utilisé à d'autres fins ». Malheureusement, il y a de nombreux exemples de pollution de l'environnement à la suite d'activités d'enfouissement. Les dangers associés aux différents sites d'enfouissement varient en fonction de la nature des déchets mis en place, les conditions au sein de la décharge, et la nature du milieu environnant. Une bonne compréhension des conditions aide à identifier les risques potentiels pour l'environnement. Par exemple, la production de gaz et des lixiviats sera très différente si l'on considère une «ancienne» ou une décharge actuelle. Dans ce contexte, une décharge "moderne" se caractérise par une proportion élevée de matériaux biodégradables. La principale exigence d'une décharge «durable» est la prévention des dommages à l'environnement. Ceci sous-entend un contrôle efficace des processus de dégradation des déchets, la conception d'un enfouissement efficace, l'ingénierie et la gestion, de sorte que les risques environnementaux à long terme soient acceptables. Les principes mis en œuvre pour atteindre cet objectif ont considérablement changé depuis les années 1970 ; trois grands principes de conception et de gestion des décharges ont été reconnus; ceux-ci sont « diluéer et atténuer », autrement dit « diluer et disperser », « confinement» et « mise au tombeau » (ou «sec-tombe »).

1.6 Les processus physiques, chimiques et biologiques dans la décharge

1.6.1 Processus physico-chimiques

La lixiviation des espèces toxiques à partir d'un dépôt de déchets sera touchée par les processus liés aux déchets et à l'environnement physico-chimique. Certaines couches de déchets peuvent être hydrophobes ou impénétrables au lixiviat et la matière peut rester in situ dans un état relativement non dégradé durant de nombreuses années. Cependant, une fois que les espèces toxiques sont en solution, la réaction avec le milieu peut se produire dans un certain nombre de façons.

Les principaux processus physico-chimiques qui se produisent dans les décharges sont présumés être la précipitation, l'adsorption, l'échange d'ions et la volatilisation, bien que très peu d'études sur les processus physico-chimiques dans les déchets mis en décharge aient été entreprises. La volatilisation aura une incidence sur la composition des gaz d'enfouissement. Les autres, processus auront un impact majeur sur la composition des lixiviats et le risque associé. La composition et les réactions du lixiviat seront également impactées par les caractéristiques des déchets, y compris le potentiel d'oxydo-réduction, les caractéristiques d'adsorption, la température et les mécanismes biologiques (**Cecen and Gursoy 2000**).

• Précipitation

La précipitation est un facteur important dans les processus d'atténuation du lixiviat dans les décharges et plus particulièrement important dans l'atténuation de l'impact des métaux lourds. La plupart des métaux lourds est plus soluble à pH bas et par conséquent ceuse ai sont cenés être plus mobiles au cours des premiers stades de la stabilisation des déchets. Cependant, comme la décomposition des déchets se poursuivent, le pH augmente et la solubilité de la plupart des métaux lourds va diminuer. En outre, dans des conditions de potentiel d'oxydoréduction plus faible, la précipitation des métaux lourds par les sulfures et les carbonates insolubles peut se produire (**Rees, 1982; Lee et al., 2007**), réduisant ainsi la concentration de métaux lourds présents dans le lixiviat.

Selon **Pohland** (**1991**), la quantité de métaux lourds inorganiques présents dans les MSW est atténuée par les processus microbiologiques, la médiation de la réduction, la précipitation, l'adsorption et enfin la matrice des déchets qui peut les capturer. **Harmsen** (**1983**) a montré une réduction importante de la concentration en métaux lourds du lixiviat après le début de la phase méthanogène, fournissant ainsi des preuves pour soutenir les théories ci-dessus. À certains égards, la précipitation des métaux de cette manière pourrait être considérée comme le retour de ces composés à la terre sous une forme qui est semblable à celle dans laquelle ils ont été initialement présents avant l'exploitation minière, et peut donc représenter le moyen le plus approprié et durable d'en disposer.

• Adsorption

L'adsorption est le processus par lequel une espèce chimique se déplace d'une phase et est maintenu sur la surface d'une autre où elle s'accumule. L'adsorption chimique ou chimisorption, implique une interaction moléculaire, tandis que l'adsorption physique repose sur la liaison en raison de forces électrostatiques. L'adsorption peut être importante dans l'élimination de l'ammoniac de la phase liquide dans des conditions anaérobies et peut donc être aussi importante dans l'immobilisation ou la remobilisation des métaux.

Échange d'ions

La résistance de la liaison électrostatique entre l'adsorbat et l'adsorbant varie en fonction de facteurs tels que le pH, la température, le potentiel redox, la concentration en sel, et la densité de charge. Les ions adsorbés seront déplacés et réadsorbés selon les conditions locales, leur mouvement sera donc ralenti ou arrêté. Certaines espèces ioniques telles que les chlorures ont tendance à ne pas subir un échange d'ions et dans ce cas leur mouvement à travers la décharge dépendra d'autres facteurs.

En raison de son caractère non réactif, l'ion chlorure est souvent utilisé comme un marqueur de l'avant d'un panache de pollution des lixiviats de décharge. Dans l'environnement de la décharge, des échanges d'ions de métaux lourds peuvent se produire, bien qu'ils soient susceptibles d'être limités par les effets antagonistes de métaux alcalins et de métaux alcalino-terreux tels que Na⁺, K⁺ et Ca²⁺, et l'échange d'ions n'est pas susceptible d'être un facteur d'atténuation majeur dans cet environnement. L'échange d'ions de métaux lourds peut avoir un impact plus important dans les strates naturelles après la fuite de lixiviat provenant d'une décharge. Ce processus a été utilisé pour justifier la construction de décharges basées sur le principe « atténuer et disperser » (**Philpott et al., 1992**).

• Volatilisation

Des composés tels que les composés organiques volatiles se répartiront en fonction de leur pression de vapeur, entre les phases vapeur et liquide dans le milieu de décharge. Dans la phase gazeuse, ces composés peuvent ensuite être retirés de la décharge par émissions de surface ou via des systèmes de captage de gaz. À un moment donné, ils seront susceptibles d'affecter la composition et la migration des gaz de décharge, avec risques associés.

1.6.2 Processus biochimique

Le dépôt de déchets contenant de la matière biodégradable conduit invariablement à la production de gaz et de produits de lixiviation dont la composition variera selon la nature de la matière dégradée et les conditions ambiantes du milieu. La composition du gaz de décharge et celle des lixiviats sont donc très étroitement liées, chacun est dépendante de la nature des déchets mis en place ainsi que de l'activité des micro-organismes présents dans la décharge. Une bonne compréhension de la production, de la composition et des propriétés des déchets est ainsi essentielle pour maîtriser les problèmes environnementaux liés à leur élimination par enfouissement. Dans le cadre de l'évaluation des risques, cela fait partie de la première étape (identification des dangers).

Dans le modèle décrit précédemment, l'identification de la production, la composition et les propriétés du gaz et du lixiviat aident à définir les dangers potentiels. De nombreux facteurs sont connus pour affecter ces paramètres, y compris la composition des déchets, la teneur en humidité, le pH et enfin la taille ainsi que la densité de déchets. Comme il est impossible de contenir indéfiniment des déchets et leurs sous-produits de dégradation dans les sites d'enfouissement (indépendamment de la spécification du système de confinement), et parce que, une fois libérés, il ne peut être garanti que les récepteurs sensibles ne seront pas affectés, l'évaluation et la maîtrise du danger sont essentielles pour que la gestion des déchets soit aussi durable que possible. Dans les déchets mis en décharge, la matière végétale, le papier et le carton et dans une certaine mesure, les textiles sont tous biodégradables. La composition des déchets municipaux varie d'un pays à l'autre mais également en fonction de la saison. Dans les pays développés, les déchets contiennent généralement environ 60% de glucides, 2,5% de protéines et de 6% de lipides, le reste étant constitué de matières "inertes" et de matières plastiques. Les hydrates de carbone représentent environ 85% des matériaux biodégradables au sein d'une décharge municipale. La répartition globale peut être représentée par l'équation:

 $C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_4 + CO_2 + Biomass + Heat$

(Carbohydrate) (Méthane) (dioxide de carbone) (Bactérie)

Environ 90% de l'énergie stockée dans les hydrates de carbone peuvent-être convertis en méthane. Cette conversion est un procédé extrêmement intéressant car en raison de sa haute valeur énergétique, le méthane peut être utilisé comme un véritable combustible de chauffage et de production d'énergie (**Gendebien et al., 1992**).

La production de gaz de décharge est le résultat de l'activité bactérienne qui provoque la dégradation de la matière organique, et les premiers rapports de méthanisation dans les décharges
remontent aux années 1940 (cités dans **Gendebien et al., 1992**). Bien que bon nombre des processus censés se produisont au sein de décharges n'ait pas été étudié en détail, la présence de produits intermédiaires et finaux de la dégradation, ainsi que celle d'enzymes pertinentes nous amène à conclure que la dégradation des déchets organiques dans l'environnement de décharge est similaire à celle des matières organiques dans d'autres environnements anaérobies, même si les bactéries impliquées sont susceptibles d'être différentes.

Dans les décharges, l'oxygène piégé à l'intérieur des espaces vides est rapidement épuisé en raison de l'activité biologique. Les réactions de dégradation se produisent dans des conditions anaérobies, favorisant la croissance des micro-organismes anaérobies. Le dioxyde de carbone et le méthane sont produits à la suite de l'activité microbienne anaérobie et remplacent l'azote dans l'air resté piégé.

1.7 Organisation du manuscrit

L'objectif de ce travail de thèse est d'évaluer le degré de contamination des différents compartiments du site de la décharge d'Étueffont à savoir: les lixiviats, les sédiments, l'eau souterraine, les poissons, insectes et d'étudier les microorganismes de la décharge d'Etueffont. Ce travail de recherche est structuré en neuf chapitres.

Après une étude bibliographique (**chapitre 1**), le **chapitre 2** présente le site d'étude, l'installation de stockage de déchets non dangereux d'Étueffont.

Le chapitre 3 est consacré à l'analyse de la qualité des lixiviats dans les lagunes, Nouveau casier, Sous casier, Ancienne décharge, Ruisseau du Gros Pré et Ruisseau Mont Bonnet.

Le chapitre 4 est intitulé « Contamination métallique des sédiments du site de la décharge d'Étueffont». Il aborde l'étude de la variation spatiotemporelle des éléments traces métalliques au niveau des lixiviats et des sédiments dans les quatre lagunes du site de la décharge d'Étueffont. Afin de déterminer le degré de contamination métallique des lixiviats et des sédiments, nous avons procédé à un suivi de certains éléments localisés en amont, au milieu et en aval de chaque lagune avec un pas d'échantillonnage semestriel entre Octobre 2013 et Avril 2016. Le chapitre 5, complémentaire du chapitre précédent, définit plus précisément la distribution spatiale du panache à travers l'analyse de la qualité de l'eau souterraine à partir des piézomètres. Le

chapitre 6 traite des effets des métaux lourds sur les échanges gazeux et la fluorescence des chlorophylles dans *Typha latifolia*.

Le **chapitre 7** est consacré à l'étude des microorganismes de la décharge d'Étueffont à l'échelle individuelle des cellules, au moyen de la cytométrie en flux.

Le chapitre8 concerne l'étude de la bioaccumulation des éléments traces métalliques dans le Chironome *Chironomus riparius*.

Le **chapitre 9** intitulé « Étude de la bioaccumulation des éléments traces métalliques au niveau des différents organes du gardon *Rutilus rutilus*», traite de la bioaccumulation des éléments traces métalliques au niveau de différents organes (muscle, foie, arêtes et branchies) du gardon *Rutilus rutilus* introduit dans les deuxième et quatrième lagunes du site expérimental.

Chapitre 2

Site d'étude : la décharge d'Étueffont

Introduction générale

L'Installation de Stockage de Déchets Non Dangereux (ISDND) du SICTOM Sous Vosgien a cessé son exploitation en 2002. Il a été réhabilité par la suite, réhabilitation achevée fin 2007. L'ISDND dépend de la réglementation installation classée nationale et réglementée par l'arrêté préfectoral n°2185 de 1992 modifié par l'arrêté préfectoral complémentaire n°1416 du 10 août 1998. Et l'arrêté complémentaire du 11 mai 2016 (SQAD-2016-05-11-003).

Le SICTOM doit assurer le suivi sur 30 ans, soit théoriquement jusqu'au 31 décembre 2031, suivi post-exploitation de l'ISDND d'Étueffont portant au minimum à ce jour sur :

- Le système de gestion des lixiviats par écosystèmes épurateurs
- L'impact environnemental notamment hydrogéologique et hydrologique de l'ISDND
- L'état et l'évolution de la végétalisation
- L'état structurel du site

• La conformité réglementaire et son évolution au fil du temps et des modifications de réglementations.

Après 15 ans de suivi post-exploitation, les résultats et observations montrent que le programme de suivi imposé par l'arrêté préfectoral complémentaire n°1416 du 10 août 1998 n'est plus adapté au site et à son fonctionnement actuel. Aussi, le site fait l'objet d'un nouvel arrêté en date du 11 mai 2016.

L'humanité a recours à la mise en décharge depuis des siècles afin d'éliminer les déchets d'une manière simple, efficace et peu onéreuse. L'augmentation récurrente de la production et de l'usage des biens de consommation engendre une hausse constante des quantités de déchets produits et, à titre d'exemple, la production moyenne française de déchets est de près de 75000 tonnes par jour. Le stockage des ordures ménagères représente un risque important de contamination pour l'environnement principalement par des composés organiques mais également par des composés inorganiques tels que les ETM (**Ettler et al., 2006**). La composition et les concentrations des matières toxiques dans le lixiviat dépend à la fois de facteurs hydrogéologiques et climatiques ainsi que du type de déchets et de leur durée de stockage. Le transfert des polluants se fait suivant des phénomènes de lixiviation et de ruissellement ou d'infiltration jusqu'aux nappes d'eau superficielles ou sous-terraines (**Silva**

et al., 2004 ; Baun et al., 2004). Ce type de pollution représente une menace sérieuse pour l'environnement et la santé. En effet, il existe un risque de dégradation de la qualité des eaux pouvant mener à des problèmes de potabilité de l'eau (Belle et al., 2008) pour les communes en aval. L'adsorption et la fixation des métaux par le sol et les sédiments créent une source de danger supplémentaire puisqu'à long terme, les ETM peuvent être remobilisés lors de modifications physico-chimiques du milieu (Ettler et al., 2006). Enfin, la biodisponibilité des substances toxiques se traduit par un transfert vers les plantes ou les animaux et ainsi le long des réseaux trophiques (Torri et al., 2008). L'eau étant l'agent de transport principal des polluants, dans certains cas, des installations de traitement des lixiviats par lagunage naturel et par des filtres de graviers permettent l'accumulation des substances toxiques dans les boues d'épuration et un abattement important de la charge polluante (Aleya et al., 2006) L'effluent traité peut être ainsi rejeté dans l'environnement sans risque majeur de contamination.

2.1 Site d'étude

- Nom : Installation de Stockage de Déchets Non Dangereux (ISDND) du Syndicat intercommunal de collecte et de traitement des ordures ménagères (SICTOM) de la Zone Sous-Vosgienne.

- Lieu :

France /Territoire de Belfort /Communes d'Anjoutey, de Rougemont le Château, de Romagny sous Rougemont /Départementale 2 (rue d'Étueffont), Route de la Terre Qui Tourne et Chemin de Bois Meunier /Latitude 47°43'19.24"N, Longitude - 6°56'58.73"E.

- Dimension

Surface : 6,3 ha - Grande longueur 458 m/Grande largeur : 265 m

- Gestionnaire :

Syndicat intercommunal de collecte et de traitement des ordures ménagères (SICTOM) de la Zone Sous -Vosgienne.

- Exploitation

De 1976 à 2002.

- Fermeture et post- exploitation

Juillet 2002

Réhabilitation définitive (date et descriptif succinct des travaux)

Date : été 2007

Remodelage de l'ancienne décharge, Recouvrement définitif du massif de déchets, Création d'un système de gestion des eaux pluviales, Création d'un système de gestion et contrôle des

biogaz résiduels (piézogaz), Végétalisation et reconquête écologique, Mise en place de clôtures définitives

Maitre d'œuvre réhabilitation

Espace de Vie Ingénierie (VRD) /Atelier d'Ecologie Urbaine (Géosciences, environnement, écologie urbaine)

- Arrêtés préfectoraux en vigueur

Arrêté préfectoral n°2185 de 1992 et arrêté préfectoral complémentaire n°1416 du 10 août 1998. Arrêté complementaire du 11 mai 2016 (SQAD-2016-05-11-003).

- Obligation de suivi

Jusqu'au 31 décembre 2031 (article- 6 de l'arrêté préfectoral 1416 du 10 août 1998).

- Suivi post- exploitation

Depuis 2002 et jusqu'au 1^{er} semestre 2013 : recherches scientifiques (recherches scientifiques engagées dès 2000, site alors en exploitation) / Octobre 2013 : mission de suivi – Bureau d'études Atelier d'Ecologie Urbaine/Prévision pour 2013-2016 : convention de recherche et suivi : Université de Franche Comté, SICTOM sous- Vosgien, Atelier d'Ecologie Urbaine.

- Type de déchets et nombre d'unités de stockage.

Ordures ménagères broyées : un casier dit « Nouveau casier » et une « Ancienne décharge », soit 2 unités de stockage.

- Gestion des lixiviats

Lagunage naturel (écosystème épurateur) -4 lagunes consécutives, la lagune 1 étant équipée de filtres à cailloux.

- Gestion des biogaz

6 piézogaz/ évents (pas de biogaz détecté sur ce site)

- Infrastructure de surveillance

Important réseau de piézomètres

Piézogaz/évents

Bassins et lagunes, points de rejet accessibles

- Avoisinants

Décheterie du SICTOM de la Zone Sous -Vosgienne. Ancien quai de transfert des zones d'etueffont. Installation de Stockage de Déchets Inertes (ISDI) appartenant à une société privée.

Forêts : bois Meunier, bois du Seigneur

Collines et ballons : Mont Bonnet, Haut du Pré des Loups, Terre qui tourne, Mont Bouillon

Ruisseau du Mont Bonnet, étangs et mares associés, artificiels ou non

Une décharge de 4 hectares a été mise en place en 1976 à Etueffont, à 15 km au Nord-Est de Belfort (90), conformément à la loi 75-633 du 15 juillet 1975 (Figure 2.1, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6 et 2.7) pour recevoir les déchets de 66 communes environnantes. Fonctionnelle jusqu'en 2002, cette décharge présentait un mode d'exploitation à ciel ouvert par broyage des déchets sans compactage (**Khattabi, 2002**). Cette gestion entraîne la production d'une quantité importante de lixiviats (**Stegman et Ehrig, 1980**) collectée en aval de la décharge, et traitée par un système de lagunage naturel (Figure 1) mis en place en 1994, suite à la loi 92-646 du 13 juillet 1992. Une partie des lixiviats est drainée et traverse une succession de quatre lagunes étanches et peu profondes. Le tableau 1 présente les principales caractéristiques de chacune de ces lagunes. Les lixiviats subissent alors une épuration naturelle grâce aux micro- organismes (**Genevois, 2006 ; Khattabi et al., 2007**).

2.2 La plate forme déchetterie - quai de transfert (PDQT).

A proximité de la décharge (Figure 2.1), se trouve une déchetterie et un quai où les ordures ménagères collectées sont transférées sur des camions pour être acheminées à l'incinérateur du Territoire de Belfort. Ces lieux de travail sont équipés de WC reliés à une fosse septique. Elle se déverse dans un collecteur qui recueille également les eaux de pluie de la plateforme. Les eaux du collecteur subissent un dégraissage puis sont rejetées dans le milieu naturel en contrebas de la décharge, et constituent une source temporaire du Gros Pré.



Figure 2.1 : schéma de présentation du site et surface des différentes entités (Belle, 2008).

2.3 Géologie et hydrogéologie du site.

2.3.1 Contexte géologique.

La décharge a été installée sur un substratum constitué de schistes ayant, en théorie, une perméabilité comprise entre 10⁻⁶ et 10⁻⁹ m.s⁻¹, suffisamment faible pour limiter les infiltrations souterraines, la contamination de la nappe et pour assurer une autoépuration des lixiviats (site semi-perméable de classe 2). Faisant partie d'un anticlinal, leur schistosité est quasiment verticale, orientée NE-SO (Figure 2.2). Ce compartiment schisteux dévono-dinantien est bordé au SE par une faille qui le met en contact avec des grès du bassin permien.



Figure 2.2 : coupe géologique NO - SE au niveau du site, d'après la carte géologique de Thann au 1/50000- (Belle, 2008).

En outre, l'analyse des cuttings, récupères lors du creusement des piézomètres, montre que les schistes proches de la décharge sont altérés sur les 6 premiers mètres avec une fraction argileuse importante. Les schistes sont assez hétérogènes avec notamment des filons de quartz. De même, les grès permiens conglomératiques présentent une forte hétérogénéité (argiles, quartzites, conglomérats de nature diverse) (Belle 2008).

2.3.2 Contexte hydrogéologique.

Les forages ont mis en évidence 2 arrivées d'eau distinctes dans les schistes, l'une dans la zone d'altération à 3 m de profondeur et l'autre dans les schistes sains à 12 m. Les niveaux piézométriques montrent cependant qu'il n'y a qu'une seule nappe qui circule vers le SO et des grès vers les schistes (**Khattabi, 2002**).

Carte de localisation



Figure 2.3 : localisation de l'ISDND du SICTOM Sous Vosgien (90) – IGN (Géoportail).



- Photographies aériennes

Figure 2.4 : vue panoramique de l'ISDND d'Étueffont (90) dans son environnement général – Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone.



Figure 2.5 : périmètre de l'ISDND d'Étueffont (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone.



Figure 2.6 : vue des avoisinants du SICTOM Sous-Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone.



Figure 2.7 : vue des avoisinants du SICTOM Sous -Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone.

2.4 Structure et état du site et de ses composantes

2.4.1 Modelage

Le modelage avait été travaillé lors de la réhabilitation en 2007 pour avoir un profil doux, similaire à la géomorphologie locale de monts et ballons vosgiens. Les pentes sont le plus souvent douces sauf à la faveur des merlons de soutien latéraux et frontaux. Le modelage actuel est conforme à ce qui avait été créé lors de la réhabilitation. Il n'y a pas de zone creuse (liée à d'éventuels tassements différentiels), ni d'anomalies sur les pentes.

2.4.2 Recouvrement

Les recouvrements définitifs des masses de déchets ont été réalisés lors de la réhabilitation. Ils sont constitués d'une couche de fermeture (minimum 70cm) de matériaux terreux et d'une

couche de finition (10cm), soit une épaisseur dépassant 80cm au total. Les recouvrements sont en parfait état, il n'est pas noté de déchets visibles ni d'arrachement du recouvrement.

2.4.3 Merlons

Le site étant installé dans un vallon avec un relief et différentes pentes, il existe 4 merlons périphériques permettant le soutien des masses de déchets :

- Merlon frontal, retenant le « Nouveau Casier » au Sud-Ouest (Figure 2.10).
- Merlons latéraux, retenant « L'Ancienne décharge » au Nord et au Sud (Figure 2.9).
- Merlons arrière, retenant « L'Ancienne décharge » côté Nord Est (Figure 2.8).

Ces merlons sont constitués de schistes issus du site lui-même. Ils ont de bonnes caractéristiques géotechniques, adaptées au lieu et aux contraintes. Le Merlon arrière a été partiellement recouvert (et ainsi élargi et renforcé) de matériaux terreux lors de la réhabilitation, pour des questions de modelage uniquement.



Figure 2.8 : vue sur le merlon arrière de l'ISDND du SICTOM Sous-Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone.



Figure 2.9 : vue sur le merlon arrière et latéral Sud de l'ISDND du SICTOM Sous-Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone.



Figure 2.10 : Vue sur le merlon frontal l'ISDND du SICTOM Sous -Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone.



Figure 2.11 : vue sur le merlon latéral sud l'ISDND du SICTOM Sous- Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone.



Figure 2.12 : vue aérienne 1/2 de détail (Nord-Ouest) sur la végétalisation du massif de déchet de l'ISDND du SICTOM Sous -Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone.



Figure 2.13 : vue aérienne 2/2 de détail (Sud-Est) sur la végétalisation du massif de déchet de l'ISDND du SICTOM Sous- Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone.



Figure 2.14 : bassins de gestion des ruissellements - Etat de végétalisation -Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone.

2.5 Système de gestion des ruissellements de surface

Le système de gestion des ruissellements est constitué de 3 bassins d'infiltrations, reliés par des noues et tronçons en réseau, ainsi que le fossé latéral constituant le début du ruisseau du Gros Prés. L'ensemble du système est en parfait état de fonctionnement, aucune anomalie n'a été constatée.

2.5.1 Système de gestion des lixiviats

Le système de gestion et traitement des lixiviats du site d'Étueffont est constitué de 4 lagunes de traitement (tableau 2.1), qui possèdent chacune un rôle important et différent dans l'abattement des substances polluantes. Les trois dernières lagunes sont de simples bassins, avec un débit de fuite contrôlé, et ne disposent pas de filtres. Ces lagunes sont de grande taille, et de formes différentes (allongement +/- marqué). La première lagune est différente des autres. Deux filtres à cailloux divisent cette première lagune, de forme allongée, qui peut porter le nom de « bassin à filtre à cailloux ». Les filtres à cailloux sont des amas de granulats, avec un ensemble de masses à granulométrie différentes, imbriquées en couche horizontale avec des drainages internes. Le débit de fuite à la sortie est contrôlé par la perméabilité des filtres à cailloux, et en sortie de la lagune (Figure 2.15).

Le lagunage consiste à épurer des effluents liquides en utilisant des plans d'eau naturels ou artificiels. Cette technique regroupe à la fois des processus unitaires physico-chimiques et biologiques. La première lagune, (bassin à filtre à cailloux) se propose de croiser, pour plus d'efficacité, le pouvoir épurateur et régulateur d'une lagune et des filtres à cailloux inspirés des techniques d'assainissement. De nombreux paramètres influent sur le rendement de cette technique de dépollution des lixiviats : temps de séjour des eaux, charge initiale en polluants des lixiviats, leur nature et leur concentration, les conditions extérieures et l'oxygène disponible pour la dégradation de la matière organique.

Le réseau hydrographique du secteur de l'ISDND est constitué par le ruisseau Gros Prés dont l'amorce jalonne les lagunes de traitement situées en aval de l'aire de stockage. Le rejet des eaux circulant sous le nouveau casier (NC) constitue la source principale du ruisseau, occasionnellement complétée par les eaux de ruissellement de la plate-forme de la décheterie surplombant la zone de stockage. Un autre apport hydrique intervient en sortie de lagunage avec le rejet des lixiviats traités. Le ruisseau poursuit son tracé en aval du site et entre en confluence avec le ruisseau Mont Bonnet environ 1000 mètres plus bas. Un suivi est effectué dans chaque ruisseau, en amont immédiat de leur confluence (GP aval et MB aval).

Tableau 2.1 : caractéristiques morphométriques des quatre lagunes de la station d'Etueffont (Khattabi, 2002).

Lagunes	Lagune 1	Lagune 2	Lagune 3	Lagune 4
Longueur (m)	78	46	66	48
Largeur (m)	5	43	28	23.5
Profondeur (m)	0.8	1	1	1
Surface (m ²)	390	1943	1848	1128
Volume (m ³)	312	1943	1848	1128
Débit moyen de sortie (m ³ /s)	0.001	0.001	0.001	0.001
Temps de séjour (j)	5	32	31	19



Figure 2.15 : vue aérienne des Lagunes de l'ISDND du SICTOM Sous- Vosgien (90) - Drone Atelier d'Ecologie Urbaine/Terranodrone – 30 Octobre 2013

2.5.2 Suivi de l'impact hydrogéologique local.

L'impact hydrogéologique a été apprécié grâce à la réalisation des investigations suivantes :

15 piézomètres : les piézomètres concernés étaient PZ2, PZ3, PZ4, PZ6, PZ7, PZ8, PZ9, PZ30, PZ40, PZ70, PZ80, PZ90, PZ100, PZ110 et PZ50 (Nouveau, installé récemment en 2014, remplace le PZ5 amont qui se trouve maintenant dans l'enceinte de la zone de stockage de déchets inertes exploitée par Carrière de l'Est) ; (Figure 2.16). Le réseau piézométrique comprenait en 1998, 11 piézomètres (PZ1, PZ10, PZ2, PZ20, PZ21, PZ22, PZ4, PZ40, PZ5, PZ6 et PZ60) destinés au suivi des eaux souterraines.



Figure 2.16 : plan de situation des piézomètres et réseau hydrographique sur fond de carte topographique (Belle, 2008).

Pour un suivi simultané des parties superficielle et profonde de la nappe, deux types de piézomètres ont été instalés : des piézomètres « courts » fournissant un accès à la frange superficielle de la nappe et des piézomètres « longs » permettant d'atteindre la partie basse de la nappe. Les piézomètres courts ont été forés sur une profondeur variable (6-17 m) et sont équipés d'un tube PVC crépine (fente de 1 mm) à partir de 2-3 m sous la surface du sol, la partie sommitale étant pleine et équipée d'un bouchon d'argile. Les piézomètres longs dont la

profondeur peut varier de 13 à 25 m, sont crépines seulement dans les schistes sains dont la profondeur du toit varie très fortement d'un point à un autre. La partie supérieure est constituée d'un tube PVC. Tous les piézomètres sont équipés d'une tête métallique cadenassée. (Figure 2.16, 2.17 et 2.18).



Figure 2.17 : implantation sur image Google Earth et orthophotographie drone des piézomètres.



Figure 2.18 : implantation sur image satellite Google Earth et orthophotographie drone des piézomètres.

2.5.3 Localisation et géo-référencement de tous les points de prélèvement

2.5.3.1 Géo- référencement

L'ensemble des points de prélèvements ont été géo-référencés au moyen d'un GPS. Les coordonnées sont synthétisées ci-dessous (Tableau 2.2).

	ns1:name5	ns1:longitud	ns1:latitud	ns1:longitud	ns1:latitud
	PZ90 ISDND Sictom Etueffont	6,946215482	47,7197279	6°56'46	47°43'11
	PZ30 ISDND Sictom Etueffont	6,94795	47,7213866	6°56'53	47°43'17
	PZ3 ISDND Sictom Etueffont	6,947983333	47,7213866	6°56'53	47°43'17
	PZ7 ISDND Sictom Etueffont	6,9484	47,7227433	6°56'54	47°43'22
	PZ70 ISDND Sictom Etueffont	6,9484	47,7227433	6°56'54	47°43'22
	PZ2 ISDND Sictom Etueffont	6,951648051	47,7188206	6°57'6	47°43'8
	PZ80 ISDND Sictom Etueffont	6,946833333	47,7221833	6°56'49	47°43'20
	PZ100 ISDND Sictom Etueffont	6,948883333	47,7210183	6°56'56	47°43'16
Piézomètres	PZ8 ISDND Sictom Etueffont	6,946833333	47,7221833	6°56'49	47°43'20
	PZ110 ISDND Sictom Etueffont	6,948000054	47,7213207	6°56'53	47°43'17
	PZ40 ISDND Sictom Etueffont	6,948216667	47,7204866	6°56'54	47°43'14
	PZ4 ISDND Sictom Etueffont	6,948183333	47,7205033	6°56'53	47°43'14
	pZ21 ISDND Sictom Etueffont	6,951650006	47,7199984	6°57'6	47°43'12
	PZ9 ISDND Sictom Etueffont	6,946215482	47,7197279	6°56'46	47°43'11
	PZ6 ISDND Sictom Etueffont	6,944234754	47,7101075	6°56'39	47°42'36
	PZ60 ISDND Sictom Etueffont	6,944234754	47,7101075	6°56'39	47°42'36
	PZ50 ISDND SICTOM Etueffont	6,95113	47,721999	6°57'4	47°43'19
	Pvt ruisseau Mont bonnet	6,943895	47,709494	6°56'38	47°42'34
	Pvt ruisseau des Gros prés	6,945301	47,709876	6°56'43	47°42'36
	Pvt boue lagune1 Aval2	6,948306454	47,7213049	6°56'54	47°43'17
	Pvt NC et AD	6,948249909	47,7211807	6°56'54	47°43'16
	Pvt Sous casier	6,948226627	47,7212543	6°56'54	47°43'17
	Pvt Lagune4 Amont	6,946862209	47,7202648	6°56'49	47°43'13
	Pvt Lagune4 Aval	6,946404824	47,7200407	6°56'47	47°43'12
Eau					
superficiell					
e et	Pyt Lagune3 Aval	6.947105685	47.7204607	6°56'50	47°43'14
lixiviats	nyt Lagune3 Amont	6 947611526	47 7208067	6°56'51	47°43'15
	nyt Lagune2 Aval	6 947852615	47 7210141	6°56'52	47°43'16
	Pvt Lagune2 Amont	6 948489389	47 7209366	6°56'55	47°43'15
	Pyt lagune1 Aval	6 948750721	47 7211482	6°56'56	47°43'16
	Pyt lagune1 milieu	6 948297518	47 7214591	6°56'54	47°43'17
	Pyt lagune1 Amont	6 948125091	47 7215638	6°56'53	47°43'18
Boue	Pyt houe lagune1 Aval1	6 948355079	47 7212995	6°56'54	47°43'17
	Pyt houe lagune1 Milieu1	6 948355079	47 7212995	6°56'54	47°43'17
	Pyt houe lagune1 Milieu1	6 948355079	47 7212995	6°56'54	47°43'17
	Pyt houe lagune1 Amont	6 948355079	47 7212995	6°56'54	47°43'17
	Pyt houe lagune4 Aval	6 946737088	47 7201306	6°56'48	47°43'12
	Pyt houe lagune4 Amont	6 946737088	47 7201306	6°56'48	47°43'12
	Pyt boue lagune3 Aval	6,946737088	47,7201306	6°56'48	47°43'12
	Pyt boue lagune3 Amont	6,94741874	47,7208275	6°56'51	47°43'15
	Pyt boue lagune2 Aval	6.94741874	47,7208275	6°56'51	47°43'15
	Pyt houe lagune2 Amont	6 94741874	47 7208275	6°56'51	47°43'15
	Alloue lagunez Allont	0,54741074	77,7200273	0 30 31	-7, -3 13

Tableau 2.2 : synthèse des coordonnées GPS des points de prélèvements.

Piézomètre	Туре	Profondeur	Hauteur crépinée	Formation	Date de
		(m)	(m)	géologique	création
PZ2	long	15	12-15	grès	1997
PZ20	court	6	3-6	grès	1997
PZ21	court	6	3-6	grès	1997
PZ22	court	6	3-6	schistes	1997
PZ3	long	15	12-15	schistes	1997
PZ30	court	6	3-6	schistes	1997
PZ4	long	20	17-20	schistes	1997
PZ40	court	6	3-6	schistes	1997
PZ5	long	13	10-13	schistes	1997
PZ7	long	17,5	11,5-17,5	schistes	2007
PZ70	court	11,5	2-11,5	schistes	2007
PZ8	long	25	17-25	schistes	2007
PZ80	court	17	2-17	schistes	2007
PZ9	long	15	8-15	schistes	2007
PZ90	court	8	2-8	schistes	2007
PZ100	court	10	2-10	schistes	2007
PZ110	court	10	2-10	schistes	2007

Tableau 2.3 : caractéristiques des piézomètres.

Le réseau piézométrique a permis de déterminer un sens d'écoulement de l'eau souterraine du Nord-Est vers le Sud-Ouest, soit de la nappe des grès vers la nappe des schistes (**Khattabi**, **2002 ; Belle, 2008 ; Grisy 2013**). Le nouveau réseau piézométrique implanté en 2007 a permis d'établir une carte piézométrique plus détaillée (Tableau 3). Les données ont été interpolées par krigeage à l'aide du logiciel Surfer (Golden Software, Inc.). La carte piézométrique montre une convergence des écoulements vers le thalweg principal et par conséquent vers la décharge qui est implantée dans l'axe du thalweg. Le comportement hydrodynamique de la nappe est identique en périodes de hautes et basses eaux mais diffère avec la profondeur en relation avec les variations lithologiques. En surface, des circulations hypodermiques rapides interviennent dans les schistes altérés à forte perméabilité tandis qu'en profondeur, les circulations sont plus lentes en raison de la présence des schistes compacts. La forte différence de perméabilité entre ces deux formations génère un plan de ruissellement selon lequel l'eau souterraine superficielle s'écoule (**Belle, 2008**).

Chapitre 3

Évaluation et composition des lixiviats dans les lagunes

3.1 Introduction

La gestion des déchets solides et les impacts environnementaux connexes présentent un défi aussi bien pour les pays développés que pour ceux en voie de développement. La quantité de déchets générés est directement liée à l'augmentation de la population, l'augmentation de la richesse et l'utilisation des ressources. La méthode la plus largement utilisée pour l'élimination des déchets solides municipaux est la mise en décharge, elle représente jusqu'à 95% des déchets éliminés au niveau mondial (**Kurniawan et al., 2006**).

La mise en décharge est généralement la méthode la plus économique pour éliminer les déchets solides municipaux (Ustohalova et al., 2006). Cependant, il existe un certain nombre d'inconvénients environnementaux associés aux sites d'enfouissement (Calvo et al., 2005). Ces derniers ont attirés de plus en plus l'attention de la société au cours des dernières décennies, car les décharges constituent une source considérable de pollution des eaux souterraines (Bjerg et al., 2003).

Dans les décharges, les déchets sont éliminés, et subissent un certain nombre de modifications physico-chimiques et microbiologiques. Le lixiviat est produit lorsque l'eau percole à travers les couches de déchets (**Kjeldsen et al., 2002**). Lorsque la quantité des précipitations est supérieure au taux d'évaporation, le niveau de lixiviat dans les décharges augmente (**Robinson 2005**). Le lixiviat peut contenir de grandes quantités de composés organiques et inorganique (**Bodzek et al., 2006**). Si le lixiviat n'est pas contrôlé, il peut cheminer dans les sols environnants pour finalement finir dans les eaux souterraines.

Le lixiviat de décharge contient plus de 90 composés organiques et métalliques et 50 éléments inorganiques, y compris des composés aliphatiques halogénés, du benzène, des benzènes alkyles, du phénol, des phénols alkylés, des éthoxylates, des composés aromatiques polycycliques, des benzènes phénols chlorés, des esters phtaliques, et des polychlorobiphényles (PCB-), des dioxines et des furannes chlorés, des retardateurs de flamme bromés, des pesticides, de l'étain organique, du méthyl de mercure et des métaux lourds (Öman et Junestedt 2008). Parmi les résidus pharmaceutiques, le naproxène et l'ibuprofène sont présents en concentrations élevées, ce qui contraste avec d'autres produits de haute consommation tels que le paracétamol qui restent peu détectés (Haarstad et al., 2005). L'occurrence de perturbateurs endocriniens (PE) est largement documentée. Les types et les concentrations dépendent des sites d'enfouissement. La présence de sel est également rapportée et peut influencer la dégradation biologique (Singlande et al., 2006). La matrice des lixiviats est donc très complexe, et les résultats de la composition peuvent être modifiés par des analyses formulées à la suite de méthodologies développées pour d'autres types d'échantillons aqueux (**Pinel et al., 2005**).

Malgré un nombre inconnu de différents autres composés, le mécanisme d'élimination dominant dans le traitement des lixiviats est celui de l'azote ammoniacal. En effet, l'ammonification de formes organiquement liées à l'azote (comme les acides aminés et les protéines) peut libérer une quantité importante d'ammoniac. Le paramètre critique pour évaluer le processus de dégradation biologique est donc la teneur en azote ammoniacal. Les valeurs de DCO doivent être également considérées et spécifiquement traitées si besoin. Les pesticides, les autres substances organiques présentes en traces et les métaux traces, montrent aussi une réduction significative lors des procédés de traitement biologique aérobie (**Carville et al., 2003**). Compte tenu de la forte teneur en déchets organiques dans les décharges, la vitesse d'hydrolyse de la matière organique joue un rôle déterminant sur le taux de stabilisation des déchets, et par conséquent, la qualité du lixiviat (**Wagner et Vasel 1998**).

3.2 Matériels et méthodes

3.2.1 Suivi du système de gestion des lixiviats

Afin de suivre l'évolution à long terme des lixiviats du système de lagunage, 6 campagnes physico-chimiques ont été réalisées (octobre 2013-avril 2016) selon un pas de temps semestriel (figure 3.1).



Figure 3.1 : chronologie des différentes campagnes de prélèvements des lixiviats.

3.2.2 Procédure d'échantillonnage des lixiviats

Une série de prélèvements d'eau a été réalisée, en sortie de réseaux de collecte et une autre directement dans les lagunes : dans chaque lagune, trois prélèvements ont été effectués en amont, au milieu et en aval, pour la lagune 1 et deux prélèvements pour les lagunes 2,3 et 4 (Figure 3.2). Les échantillons sont conservés dans des flacons de 2 litres jusqu'au moment de l'analyse.

Lagune 1 : 3 prélèvements (amont-milieu-aval)

- Lagune 2 : 2 prélèvements (amont-aval)
- Lagune 3 : 2 prélèvements (amont-aval)
- Lagune 4 : 2 prélèvements (amont-aval)

Les échantillons ont été collectés à l'entrée de la lagune 1 et à la sortie de la lagune 4, directement dans des flacons en polyéthylène puis conservés en glacière pendant le transport. Ils ont été ensuite maintenus à (-80 °C) à l'obscurité jusqu'au moment de l'analyse. Six campagnes de prélèvements ont été organisées. Une journée passée sur le site a été suffisante pour collecter les échantillons désirés. Nous avons utilisé des flacons de 50 ml et nous avons prélevé les lixiviats au niveau de la surface de la lagune et à proximité de l'arrivée d'eau.



Figure 3.2 : implantation sur image satellite Google Earth des prélèvements d'eau des lagunes et lixiviats en sortie des massifs de déchets.

3.3 Suivi de l'impact hydrologique local.

Le suivi hydrologique local a été réalisé grâce aux investigations suivantes (figure 3.2) :

Le réseau hydrographique du secteur de l'ISDND est constitué par le ruisseau Gros Prés dont l'amorce jalonne les lagunes de traitement situées en aval de l'aire de stockage. Le rejet des eaux circulant sous le nouveau casier (NC) constitue la source principale du ruisseau, occasionnellement complétée par les eaux de ruissellement de la plate-forme de la déchèterie surplombant la zone de stockage. Un autre apport hydrique intervient en sortie de lagunage avec le rejet des lixiviats traités. Le ruisseau poursuit son tracé en aval du site et entre en confluence avec le ruisseau Mont Bonnet environ 1000 m plus bas. Un suivi est effectué dans chaque ruisseau, en amont immédiat de leur confluence (GP aval et MB aval).

- 3.3.1 Prélèvement de deux échantillons d'eau (Figure 3.3)
- 1-Ruisseau des Gros Prés : 1 prélèvement (photo 3.1).
- 2- Ruisseau Mont Bonnet : 1 prélèvement (photo 3.2).



Figure 3.3 : implantation sur image satellite Google Earth des prélèvements d'eau dans les ruisseaux Gros Prés et Mont Bonnet.



Photo 3.1 : ruisseau des Gros Prés octobre 2014 photo 3.2 : ruisseau du Mont Bonnet octobre 2014

3.3.2 Stratégie d'échantillonnage des lixiviats bruts

Dans le cadre de cette étude, la qualité des lixiviats bruts du Nouveau Casier (NC), du Sous Casier (SC) et de l'ancienne Décharge (AD), a été suivie sur une période de quatre ans (octobre 2013 – avril 2016), selon un pas de temps mensuel en début de suivi puis semestriel en fin de suivi. Les résultats obtenus complètent les analyses précédemment effectuées sur le site au cours du suivi imposé par l'arrêté d'autorisation et lors de travaux scientifiques (**Khattabi, 2002 ; Belle, 2008 ; Grisey 2013 ; Ben Salem 2014**). Les lixiviats de l'Ancienne Décharge et ceux du Nouveau Casier et de Sous Casier ont été directement collectés à la sortie des tuyaux de drainage (avant leur entrée dans le dispositif de traitement par lagunage naturel), dans des flacons en polyéthylène puis conservés en glacière pendant le transport. Ils ont été ensuite maintenus dans l'obscurité à (- 80°C) jusqu'au moment de l'analyse.

3.4 Mesure des paramètres

3.4.1 Mesures in situ

Le pH, la conductivité et la température ont été mesurés *in situ* grâce à un pH mètre et un conductimètre de marque WTW (modèle MultiLine P3) en utilisant une cellule de conductivité standard TetraCon® 325 et une électrode combinée de pH à sonde de température intégrée SenTix 41 (\pm 0,1 ; \pm 0,01 µS.cm⁻¹ ; \pm 0,1 °C, respectivement).

3.4.2 Mesures en laboratoire

3.4.2.1 Matière organique

Les trois paramètres ci-dessous permettent d'évaluer la charge polluante d'une eau.

L'analyse de la demande biologique en oxygène (DBO₅) a été effectuée sur des échantillons dilués par la méthode d'oxymétrie, selon la norme NF EN 1899-1 (**AFNOR, 1998**). Elle exprime la quantité d'oxygène consommée par les bactéries pour dégrader la matière organique biodégradable, sur une durée de cinq jours. La marge d'incertitude varie entre 22 et 14 % pour des valeurs variant respectivement de 0 à 50 mg.L⁻¹. Pour des valeurs \geq 50 mg.L⁻¹, l'incertitude est de 14 %.

La demande chimique en oxygène (DCO) a été déterminée à partir de la méthode au dichromate de potassium (K₂Cr₂O7) après digestion selon la norme NF T90-101 (**AFNOR**, **2001**) (incertitude comprise entre 11 et 4 % pour des valeurs variant de 0 à \geq 500 mg.L⁻¹). Elle représente la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder la matière organique, biodégradable ou non, contenue dans une eau. Les analyses ont été effectuées dans les 24 h par le SERAC - Laboratoire de Chimie des Eaux, Université de Franche-Comté, Besançon (25).

Les ions bicarbonates HCO^{3-} ont été analysés dans les 24 h par dosage volumétrique à l'aide de H_2SO_4 N/50 (incertitude 4,5 %).

L'azote, l'ammonium, les nitrates et les orthophosphates ont été mesurés selon les méthodes standard (**APHA**, **2005**). Les analyses ont été effectuées sur la période d'étude, à raison de deux campagnes par saison.

Les matières en suspension sont déterminées selon la norme AFNOR T90-105. Après filtration d'une prise d'essai sur des filtres de verres GF/C préalablement séchés et pesés, les filtres sont placés à l'étuve à 105°C pendant 2 heures puis repesés. La matière en suspension est la différence de poids des filtres après et avant filtration, rapportée au volume filtré.

3.4.2.2 Ions majeurs

Les cations majeurs (Na⁺, Ca²⁺, K⁺ et Mg²⁺) ont été analysés par spectrométrie d'absorption atomique après filtration à 0,45 μ m avec des membranes en acétate de cellulose de marque Whatman et acidification à pH < 2 avec du HNO₃ concentré (incertitude 1-8 %).

Les anions majeurs (fluorures, chlorures, nitrates, nitrites, phosphates et sulfates) ont été dosés par chromatographie d'échange ionique (DX-500) après avoir été dilués et filtrés sur une membrane en nylon (Whatman plc, Kent, UK) de porosité 0,2 µm. Le détecteur est de type conductimétrique. Le principe consiste à injecter une partie de l'échantillon à l'intérieur d'un flux éluant. Les différents ions traversent alors une colonne qui va les séparer en fonction de leur affinité avec les sites échangeurs. Un détecteur conductimétrique associé à un ordinateur permet l'enregistrement de chromatogrammes présentant des pics d'élution à

différents temps spécifiques pour un ion donné. Un étalonnage journalier permet d'associer la surface du pic à la concentration de l'ion considéré. La précision est de \pm 5%.

Les analyses ont été effectuées au Laboratoire d'Hydrogéologie (QUALIO) de l'Université de Bourgogne-Franche-Comté, Besançon (25).

3.4.2.3 Eléments-traces

Les teneurs des éléments métalliques (arsenic, cadmium, chrome, cuivre, nickel, plomb, zinc, aluminium, sélénium, étain, bore, argent, manganèse et fer) ont été déterminés par spectrométrie ICP-OES 720-ES Varian. Le couplage torche à plasma – émission optique (*Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectroscopy*) est une technique permettant de doser en quelques minutes un grand nombre d'éléments en solution dans une gamme allant de 1 ppm à quelques pourcents.

La méthode consiste à ioniser un échantillon en l'injectant dans un plasma d'argon, à une température entre 6 000°C et 10 000°C. L'échantillon est amené jusqu'à la torche à plasma par une pompe péristaltique. Au contact avec l'argon, l'échantillon est alors nébulisé, puis transporté jusqu'au centre du plasma. Il subit différentes étapes de décomposition, d'atomisation et d'ionisation conduisant à une excitation des atomes et des ions. Le couplage torche à plasma – émission optique utilise le fait que la température très élevée dissocie tout d'abord la matière en atomes et en ions libres et excite ensuite ces derniers. Leur retour à un état stable s'accompagne d'une émission de photons dans l'ultraviolet et le visible dont l'énergie (donc la longueur d'onde) est caractéristique de l'élément analysé.

Tous les échantillons ont été filtrés à 0,45 μ m avec des membranes en acétate de cellulose de marque Whatman et acidifiés à pH < 2 avec du HNO₃ concentré avant analyse.

Les données recueillies ont été soumises à une analyse unidirectionnelle de variance (ANOVA), et ont été utilisés pour déterminer si les échantillons variaient significativement entre les points d'étude, les possibilités de moins de 0,05 (p <0,05) étaient considérées comme statistiquement significatives.

3.5 Résultats

3.5.1 Surveillance hydrologique

Observation :

Il n'a pas été détecté d'anomalie dans les résultats d'analyses. Les teneurs détectées dans le ruisseau du Mont Bonnet et le ruisseau des Gros Prés au niveau de leur confluence sont inférieures aux seuils de l'Arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique.

Pour la quasi-totalité des échantillons, les analyses ne montrent pas d'anomalie particulière. Les teneurs en éléments traces et en éléments majeurs, ainsi que les différents paramètres mesurés sont inférieures à celles de l'Arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique.

3.5.2 Système de gestion des ruissellements de surface

Le système de gestion des ruissellements est constitué de 3 bassins d'infiltration, reliés par des noues et tronçons en réseau.

L'ensemble du système est en parfait état de fonctionnement, aucune anomalie n'a été constatée.

Nous signalons des problèmes d'évolution en friche liés au développement localisé d'une flore luxuriante. Des remarques sur ce développement intense de la végétation du site sont présentées au paragraphe «4.6 Végétalisation du reste du site - 4.6.3 les ouvrages de gestion des ruissellements ».

3.5.3 Système de gestion des lixiviats

Le système de gestion et traitement de lixiviats du site d'Étueffont est constitué de 4 lagunes de traitement, qui possèdent chacunes un rôle important et différent dans l'abattement des substances polluantes. Les trois dernières lagunes sont de simples bassins, avec un débit de fuite contrôlé, et ne disposent pas de filtres. Ces lagunes sont de grande taille, et de formes différentes (allongement +/- marqué). La première lagune est différente des autres. Deux

filtres à cailloux divisent cette première lagune, de forme allongée, qui peut porter le nom de « bassin à filtres à cailloux ». Les filtres à cailloux sont des amas de granulats, avec un ensemble de masses à granulométrie différente, imbriquées en couche horizontale avec des drainages internes. Le débit de fuite à la sortie est contrôlé par la perméabilité des filtres à cailloux, et en sortie de la lagune.

Le lagunage consiste à épurer des effluents liquides en utilisant des plans d'eau naturels ou artificiels. Cette technique regroupe à la fois des processus unitaires physico-chimiques et biologiques. La première lagune (bassin à filtres à cailloux) se propose de croiser, pour plus d'efficacité, le pouvoir épurateur et régulateur d'une lagune et des filtres à cailloux inspirés des techniques d'assainissement. De nombreux paramètres influent sur le rendement de cette technique de dépollution des lixiviats : temps de séjour des eaux, charge initiale en polluants dans le lixiviat, nature et concentration des polluants, les conditions extérieures et l'oxygène disponible pour la dégradation de la matière organique.

- Première lagune (bassin à filtres à cailloux) : cette première lagune semble en très bon état. Les filtres à cailloux sont visiblement fonctionnels, les berges se tiennent, il n'est pas constaté de fuite, les arrivées et sorties des lixiviats sont en parfait état de fonctionnement.
- Seconde lagune : cette seconde lagune semble en très bon état. Les berges se tiennent, il n'est pas constaté de fuite, les arrivées et sorties des lixiviats sont en parfait état de fonctionnement.
- Troisième lagune : cette troisième lagune semble en très bon état. Les berges se tiennent, il n'est pas constaté de fuite, les arrivées et sorties des lixiviats sont en parfait état de fonctionnement.
- Quatrième lagune : cette quatrième lagune est en très bon état pour la tenue de ses berges et l'arrivée des lixiviats. Sa structure générale doit être nouveillée. Le tuyau (siphon) peut être obstrué par des débris végétaux, le débit d'évacuation est faible. Cela peut entraînait un niveau d'eau trop élevé dans la lagune et des débordements latéraux (faible débit). L'impact environnemental est minime de par la qualité de l'eau de cette dernière lagune, eau qui est de toute façon vouée à être rejetée à cet endroit.

3.5.4 Étude des paramètres physiques

A- pH

Dans la présente étude, la concentration en ions d'hydrogène (pH) variait entre 6,96 - 9,86 (Figure 3.4). Les valeurs variables entre l'amont et l'aval des lagunes étaient (6.96-9.49) dans L1, (7.11 - 8.56) en L2, (7.55 - 9.86) en L3 et (7.55 - 9.86) sur L4. Lors des périodes d'étude, toutes les lagunes présentaient des valeurs de pH > 7.

Les lixiviats du nouveau casier NC, du sous casier SC, de l'ancienne décharge AD, de Gros Pré GP et de Mont Bonnet MB ont montré une diminution progressive du pH avec des variations comprises respectivement dans les intervalles 7.8 - 8.15, 6.92 - 8.2, 7.28 - 8.26, 7.4 - 9.09 et 7.5 - 9.45. Toutes les valeurs de pH étaient > 7 pendant les périodes d'étude (Figure 3.4). Cette diminution du pH pourrait corresponde à une reprise d'influence du substrat et une diminution de l'impact de la dégradation des déchets.

B- La température

Durant cette étude, nos résultats ont montré des variations saisonnières normales des profils de température dans les eaux de surface des lagunes d'Étueffont.

Les variations de température enregistrées dans les quatre lagunes sont comprises entre 10,2 et 19,9 °C. Dans la lagune 1, la température a varié entre 10,2 et 17,5 °C, dans la lagune 2 entre 10.9 et 19,9 °C, dans la lagune 3 entre 10,3 et 15,8 °C, dans la lagune 4 entre 10,3 et 16,4 °C (Figure 3.5).

Les températures dans le nouveau casier NC, le sous casier SC, l'ancienne décharge AD variaient respectivement entre 10.2 - 16,2 °C, 11.7 - 13.7 °C et 11.3 -14.6 °C. La température dans Gros pré variait entre 9.6 à 14.1 °C et dans Mont Bonnet de 10.4 - 14 °C.

La température la plus élevée a été de 19,9 °C en avril 2014 dans la lagune 2, tandis que la température la plus basse enregistrée a été de 10,2 °C à l'aval de la lagune 1 en avril 2016. L'analyse temporelle de l'évolution des courbes de la température de l'eau dans les quatre bassins révèle l'existence de valeurs élevées en avril 2014 (15,6 °C - 19,9 °C) et faibles en octobre 2015 (de 10,5 à 12.8 °C).

C- La conductivité électrique (μ S.cm⁻¹)

La conductivité électrique de l'eau est un indicateur direct de la salinité. Dans notre étude, les variations de la conductivité électrique étaient dans la gamme 565-1919 μ S.cm⁻¹ dans la lagune 1, 321-1101 μ S.cm⁻¹ dans la lagune 2, 590 - 981 μ S.cm⁻¹ dans la lagune 3 et 521-891 μ S.cm⁻¹ dans la lagune 4, comme indiqué dans la (Figure 3.6).

Les valeurs de CE variait entre (1450-2450 μ S.cm⁻¹) dans NC, (981-1001 μ S.cm⁻¹) dans SC, (1706-21.34 μ S.cm⁻¹) dans AD, (113-265 μ S.cm⁻¹) dans GP et (72-123 μ S.cm⁻¹) en MB. On constate une diminution progressive des valeurs de conductivité électrique.

Ces résultats montrent un profil saisonnier semblable dans les quatre lagunes avec des valeurs de conductivité très élevées dans la lagune 1 et abaissées au niveau des trois autres lagunes, surtout à l'aval de la lagune 4 avec un écart important entre la première et la deuxième lagune.

Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées au cours du mois d'octobre 2013 et les valeurs les plus faibles dans le mois d'octobre 2015, sauf au niveau de la lagune 1.



Figure 3.4 : variation saisonnière de la température dans l'eau superficielle et les lixiviats.



Figure 3.5 : variation saisonnière du pH dans l'eau superficielle et les lixiviats.



Figure 3.6 : variation saisonnière de la conductivité électrique dans l'eau superficielle et les lixiviats.
3.5.5 Étude de paramètres chimiques

1- La Demande Biologique en Oxygène après 5 jours (DBO₅) et la Demande Chimique en Oxygène (DCO)

Comme indiqué dans le matériel et les méthodes de ce chapitre, la DBO a été mesurée pour les quatre lagunes. La charge organique est exprimée dans notre étude en termes de DBO₅. Le développement de ces deux paramètres dans chaque lixiviat a été suivi et indiqué.

La surveillance de l'environnement de la décharge d'eau de percolation montre que dans la période octobre 2013 - avril 2016, la valeur de DBO5 se situait dans la gamme 1.1-54 mg.l⁻¹ dans la lagune 1, 1-4 mg.l⁻¹ dans la lagune 2, 1.4-6 mg.l⁻¹ dans la lagune 3, 1.7-6.1 mg.l⁻¹ (Figure 3.7). La valeur de DBO₅ a varié de façon significative entre les points d'étude (ANOVA, F=3.552, P= 0.0004).

Le ratio BOD / COD était d'environ 40-2.68. Les valeurs de la DBO₅ variant dans la gamme 9 -4 mg.l⁻¹ dans NC, 0,7 - 2,5 mg.l⁻¹ dans SC, 1.6 - 3.1 mg.l⁻¹ dans AD, 0.9 - 1,4 mg l⁻¹ dans GP et 1.0 - 1.5 mg.l⁻¹ en MB. On observe donc une diminution progressive des valeurs de la DBO₅. Les valeurs de DCO étaient quant à elles comprises entre 9,6 et 620 mg.l⁻¹ dans NC, 14 et 59 mg.l⁻¹ dans SC, 6 et 95 mg.l⁻¹ dans AD, 6,9 et 14,9 mg.l⁻¹ dans GP et 7.8 et 14 mg.l⁻¹ en MB, (Figure 3.8). Les valeurs de DCO diminuaient progressivement en avril 2015. Les concentrations de DCO étaient plus élevées (482 mg.l⁻¹) à l'amont de la lagune 1 en avril 2016 (Figure 3.8), la concentration de DCO variait de façon significative entre les points d'étude (ANOVA, F=2.100, P= 0.028).



Figure 3.7 : variation saisonnière de la Demande Biologique en Oxygène (DBO₅) dans l'eau superficielle et les lixiviats.



Figure 3.8 : variation saisonnière de la Demande Chimique en Oxygène (DCO) dans l'eau superficielle et les lixiviats.

2- Les ions dans les lixiviats

La chimie des lixiviats a été sensiblement différente pour les campagnes d'échantillonnage entre octobre 2013 et avril 2016.

A- Les bicarbonates (mg.l⁻¹)

L'évolution des contenus en bicarbonate pour la période comprise entre octobre 2013 et avril 2016 est présentée dans la (Figure 3.9). Les teneurs variant entre 229 et 1240 mg.l⁻¹ dans la lagune 1. 337 et 472 mg.l⁻¹ dans la lagune 2, 282 et 404 mg.l⁻¹ dans la lagune 3, 267 et 345 mg.l⁻¹ dans la lagune 4, 956 et 1460 mg.l⁻¹ pour NC, 449 et 670 mg.l⁻¹ pour SC, 881 et 1180 mg.l⁻¹ pour AD. La concentration en bicarbonates variait de façon non significative entre les points d'étude (ANOVA, F=24.933, P= 3.574).

La valeur la plus élevée a été de 1460 mg.l⁻¹ pour NC en avril 2014, tandis que la valeur la plus faible a été de 229 mg.l⁻¹ en aval de la lagune 1 en avril 2015.

L'analyse des résultats montre une diminution progressive des valeurs en bicarbonate dans les lagunes 2,3 et 4 lors du prélèvement des échantillons en octobre 2015.

Le bicarbonate possède la plus forte concentration parmi les principaux anions (HCO³⁻, Cl⁻, F⁻ et SO₄²⁻) avec un maximum de 1240 mg.l⁻¹ dans la lagune 1 et un minimum de 267 mg.l⁻¹ dans la lagune 4.



Figure 3.9 : variation saisonnière de la concentration en bicarbonates dans l'eau superficielle et les lixiviats.

B – Les nitrates NO₃ $(mg.l^{-1})$

La concentration en nitrates dans les lagunes présentait une large gamme de variation (<1 - 14 mg.l⁻¹), quels que soient les sites d'échantillonnage. Les plages de variation étaient 1.1 - 34 mg.l⁻¹ dans la lagune 1, 6.1 - 13 mg.l⁻¹ dans la lagune 2, 5.2-14 mg.l⁻¹ dans la lagune 3 et <1-11 mg.l⁻¹ dans la lagune 4. La plus forte concentration (14 mg.l⁻¹) a été observée dans la lagune 1 en avril 2014. La valeur la plus élevée pour SC était de 18 mg.l⁻¹ et pour AD de 29 mg.l⁻¹ en avril 2015. La concentration la plus faible était de 3,7 mg.l⁻¹ pour SC. La concentration d'ions nitrate était <1 mg.l⁻¹ pour MB en avril 2015 (Figure 3.10). La concentration en NO₃⁻ avarié de façon significative entre les points d'étude (ANOVA, 2.265, P= 0.025).

 $C - Les nitrites NO_2^{-} (mg.l^{-1})$

La concentration d'ions nitrite était supérieure à 1 mg.l⁻¹ dans tous les sites d'échantillonnage durant le mois d'octobre 2013 (Figure 3.11). Les teneurs en nitrites ont été très faibles au début de l'essai dans le lixiviat et ont augmenté dans le lixiviat durant toute la période d'essai malgré des valeurs relativement faibles.

La concentration la plus élevée a été enregistrée au mois d'octobre 2014, lorsque les valeurs variaient entre 6.8 mg.l⁻¹en amont de la lagune 3 et 32 mg.l⁻¹ pour NC. La concentration en nitrite a diminué pour tous les sites d'étude au mois d'avril 2016. Les teneurs en nitrites pour cette période sont comprises entre 0.09 - 0.43 mg.l⁻¹. La concentration en NO₂⁻ n'a varié pas de façon significative entre les points d'étude (ANOVA, F=0.409, P= 1.994).



Figure 3.10 : variation saisonnière de la concentration en nitrates dans l'eau superficielle et les lixiviats.



Figure 3.11 : variation saisonnière de la concentration de nitrites dans l'eau superficielle et les lixiviats.

D - Azote ammoniacal (mg.l⁻¹) et Azote Kjeldahl (mg.l⁻¹)

Les valeurs les plus élevées en azote ammoniacal ont été observées dans la lagune 1 (15,6 - 62 mg.l⁻¹) et les valeurs les plus faibles dans la lagune 4 (<1-5,8 mg.l⁻¹) (Figure 3.12). La concentration en azote ammoniacal a varié non significativement entre les points d'étude (ANOVA, F=8.580, P= 4.036). Une augmentation considérable de la concentration en azote ammoniacal a été enregistrée pour NC (90,4 mg.l-1) en avril 2014, pour SC (26.5 mg.l⁻¹) en octobre 2014 et pour AD (43,6 mg.l⁻¹) en avril 2014. Toutefois, les valeurs de concentration étaient plus faibles au mois d'avril 2016. Pour l'azote Kjeldahl, la lagune 1 présentait des niveaux élevés soutenus par rapport aux lagunes 2, 3 et 4 tout au long de la période d'étude. La concentration den azote Kjeldahl était élevée pour NC (119 mg .l⁻¹) en octobre 2015. Cependant, les concentrations dans NC, SC et AD ont diminué en avril 2016 (Figure 3.13). La concentration en azote Kjeldahl a varié de façon significative entre les points d'étude (ANOVA, F=3.039, P=0.003).



Figure 3.12 : variation saisonnière de la concentration en azote ammoniacal dans l'eau superficielle et les lixiviats.



Figure 3.13 : variation saisonnière de la concentration en azote Kjeldahl dans l'eau superficielle et les lixiviats.

E - Orthophosphate PO_4 ³⁻(mg.l⁻¹), Phosphore total (µg.l⁻¹) et Fluorures (mg.l⁻¹)

Tous les échantillons de cette étude présentaient des valeurs en orthophosphate comprises entre $< 0,20 \text{ mg.l}^{-1}$ en octobre 2013, avril 2014, 2015 et 2016 et $<1 \text{ mg.l}^{-1}$ en octobre 2014. La concentration en PO₄³⁻ n'a pas varié de façon significative entre les points d'étude (ANOVA, F=0, P= 1).

Comme pour le phosphore total, toutes les valeurs de tous les échantillons dans les sites d'étude avaient diminué. En octobre 2013, dans la lagune 1, la concentration initiale du phosphore total dans le lixiviat était de 4590 μ g.l⁻¹. Les teneurs en fluorures sont relativement stables pour la plupart des échantillons du site d'étude (<0,17 mg.l⁻¹) (Figure 3.14). La concentration en P total et en fluorures a varié de façon significative entre les points d'étude (ANOVA, F=2.136, P= 0.035), 5ANOVA, F=2.923, P=0.004) respectivement.

F - Sulfates et chlorures (mg.l⁻¹)

Les concentrations en sulfate dans les quatre bassins ont varié entre 95 et 200 mg.l⁻¹ (Figure 3.15). Les concentrations en sulfates ont diminué dans tous les points d'échantillonnage en

octobre 2015. La concentration était plus élevée (390 mg.l⁻¹) pour AD en avril 2016. La concentration en SO₄ variait significativement entre les points d'étude (ANOVA, F=2.812, P=0.006).

Les concentrations en ions chlorure étaient fluctuantes au niveau de tous les sites d'étude, avec des valeurs comprises entre 9.9 et 75 mg.l⁻¹. La concentration en chlorure a diminué dans tous les points d'échantillonnage en avril 2016 (Figure 3.16). Les concentrations en Cl⁻ a varié significativement entre les points d'étude (ANOVA, F=2.666, P= 0.009).



Figure 3.14 : variation saisonnière de la concentration en fluorures dans l'eau superficielle et les lixiviats.



Figure 3.15 : variation saisonnière de la concentration en sulfates dans l'eau superficielle et les lixiviats.



Figure 3.16 : variation saisonnière de la concentration en chlorures dans l'eau superficielle et les lixiviats.

- 3 Éléments dans les lixiviats
- A Métaux Traces (MT)
- 1 L'aluminium Al ($\mu g.l^{-1}$)

L'étude récente a montré une variation des concentrations en Al comprises entre 35,3 μ g.l⁻¹ (lagune 2) et 1380 μ g.l⁻¹ (lagune 1) (Figure 3.17). Des concentrations plus élevées entre 95.1et1380 μ g.l⁻¹ ont été enregistrées au cours de la période d'étude. Les valeurs dans le reste des lagunes variaient entre 4.7 et 1380 μ g.l⁻¹ pour la lagune 1, 32.1 et 87.6 μ g.l⁻¹ pour la lagune 2, 36.8 et 1020 μ g.l⁻¹ pour la lagune 3 et 57 et 609 μ g.l⁻¹ pour la lagune 4. Les valeurs variaient entre 79.6 et 191 μ g.l⁻¹ en NC, 25.2 et 56 μ g.l⁻¹ en SC et 28.3 et 54.5 μ g.l⁻¹ en AD. La concentration en Al a varié de façon non significative entre les points d'étude (ANOVA, F=0.868, P= 0.575).

2 -Le sélénium Se (μ g.l⁻¹)

La concentration en sélénium n'a pas varié au niveau des sites d'échantillonnage, pendant toute la période de l'étude, et s'est révélée <40 μ g.l⁻¹. Elle a varié de façon non significative entre les points d'étude (ANOVA, F=0.122, P= 0.999).

3 - Étain Sn (μ g.l⁻¹)

Des concentrations élevées en Sn, entre 11.4 et 37.5 μ g.l⁻¹, ont été relevées dans la première lagune ainsi que dans NC entre 11.7 et 30.4 μ g.l⁻¹, tandis que dans tous les autres échantillons elles étaient <10 μ g.l⁻¹. En octobre 2015, en amont de la lagune 1, la concentration en Sn était plus élevée (468 μ g.l⁻¹). Elle avait diminué (137 μ g.l⁻¹) en avril 2016. La concentration en Sn a varié de façon non significative entre les points d'étude (ANOVA, F=1.890, P= 0.064).



Figure 3.17 : variation saisonnière de la concentration en aluminium dans l'eau superficielle et les lixiviats.

$4 - \text{Le bore B} (\mu g.l^{-1})$

Les gammes de concentrations en bore étaient de 204 - 511 μ g.l⁻¹ dans la lagune 1, (214 - 336 μ g.l⁻¹) dans la lagune 2, 202 - 313 μ g.l⁻¹ dans la lagune 3, 180 - 299 μ g.l⁻¹ dans la dernière lagune, 329 - 602 μ g.l⁻¹ dans NC, 204 - 346 μ g.l⁻¹ dans SC et 484 - 611 μ g.l⁻¹ dans AD (Figure 3.18). Durant cette l'étude, les concentrations en bore les plus élevées ont été observées dans la lagune 1, NC et AD. Grâce aux résultats obtenus, nous remarquons une diminution de la concentration en bore, pour tous les sites d'échantillonnage, avec les concentrations les plus faibles pour le mois d'avril 2015. La concentration en B varié de façon non significative entre les points d'étude (ANOVA, F=9.596, P= 7.67).

5 - L'argent Ag (μ g.l⁻¹)

La concentration en Ag n'a pas varié au niveau des sites d'échantillonnage, pendant toute la période de l'étude, et s'est révélée $<20 \ \mu g.l^{-1}$.

6 - Le manganèse Mn (
$$\mu g.l^{-1}$$
)

Les concentrations en manganèse ont occupé un large éventail de valeurs suivant les saisons, les plus élevées étaient observées en octobre 2013, et la plus faible $(0.97 \ \mu g.l^{-1})$ dans la

lagune 2 en avril 2015. En avril 2016, les concentrations en Mn étaient <20 μ g.l⁻¹ pour tous les points d'échantillonnage. En octobre 2014, elles atteignaient 1924 μ g.l⁻¹ pour SC et 1905 μ g.l⁻¹ dans la lagune 1. Toutes les valeurs de concentrations étaient moindres en octobre 2015 (Figure 3.19). La concentration en Mn a varié de façon non significative entre les points d'étude (ANOVA, F=0.408, P= 0.945).



Figure 3.18 : variation saisonnière de la concentration en Bore dans l'eau superficielle et les lixiviats.



Figure 3.19 : variation saisonnière de la concentration en manganèse dans l'eau superficielle et les lixiviats.

B – Autres métaux traces (fer Fe (mg.l⁻¹), arsenic As, cadmium Cd, chrome Cr, cuivre Cu, nickel Ni, plomb Pb et zinc Zn (μ g.l⁻¹) (Tableau 3.1)

En octobre 2015 les valeurs de concentration en Fe variaient entre 1.32 et 926 mg.l⁻¹ dans la lagune 1, 1.325 et 4.49 mg.l⁻¹ dans la lagune 2, 0.179 et 2,78 mg.l⁻¹ dans la lagune 3 et 0.169 et 0.976 mg.l⁻¹ dans la lagune 4, 3.79 et 9.19 mg.l⁻¹ pour NC, 0.817 et 6.96 mg.l⁻¹ pour SC et 1.77 et 9.03 mg.l⁻¹ pour AD. La concentration en Fe a varié de façon significative entre les points d'étude (ANOVA, F=2.923, P= 0.004).

Les concentrations d'arsenic étaient différentes dans les quatre lagunes, plus élevées (2240 μ g.l⁻¹) en amont de la première lagune en octobre 2015, et moindres dans les trois autres lagunes. Les concentrations étaient comprises entre 5.3 et 89 μ g.l⁻¹ pour NC, 6 et 25 μ g.l⁻¹ pour SC et 6.8 et 45 μ g.l⁻¹ pour AD. Dans GP et MB les concentrations les plus importantes ont été relevées en avril 2015 respectivement 1.08 μ g.l⁻¹ et 1.2 μ g.l⁻¹. Une augmentation de la concentration en arsenic (2240 μ g.l⁻¹) a été observée en octobre 2015 dans la lagune 1. La concentration en As a varié de façon non significative entre les points d'étude (ANOVA, F=1.608, P= 0.110).

En ce qui concerne les autres métaux, les valeurs de concentration n'ont pas mis en évidence des différences importantes, les concentrations les plus élevées correspondant aux lagunes. Il y a eu une diminution de la concentration de métaux dans tous les sites d'étude avec le temps. Les fortes concentrations de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn ont été trouvées seulement dans la lagune 1 en octobre 2015 et avril 2016 (11.7 et 8.1 μ g.l⁻¹) pour Cd, (601 et 169 μ g.l⁻¹) pour Cr, (53.1 et 126 μ g.l⁻¹) pour Cu, (66.9 et 48.8 μ g.l⁻¹) pour Ni, (86 et 73.3 μ g.l⁻¹) pour Pb et (560 et 983 μ g.l⁻¹) pour le Zn. Les concentrations de Cd, Cu et Ni n'ont pas varié de façon significative entre les points d'étude (ANOVA, F=1.811, P= 0.063), (ANOVA, F=1.423, P=0.177) et (ANOVA, F=4.439, P=4.08) respectivement.

Les concentrations de Cr, Pb et Zn ont varié de façon significative entre les points d'étude (ANOVA, F=2.451, P= 0.008), (ANOVA, F=3.547, P=0.0004) et (ANOVA, F=3.104, P=0.001) respectivement.

La répartition des valeurs de concentration en éléments minéraux pour l'ensemble des sites d'étude s'établit finalement comme suit :

Lagune 1 > NC > AD > SC lagune 2 > lagune 3 > Lagune 4 > GP > MB

C - Éléments inorganiques (anions et cations)

1 - Sodium
$$Na^+$$
 (mg.l⁻¹)

La variation saisonnière de la concentration en sodium n'a pas suiv de règle prédéfinie. La distribution spatiale du Na montre des valeurs maximales au niveau de NC (107 mg.l⁻¹), AD (106 mg.l⁻¹) et dans la lagune 1 (105 mg.l⁻¹). La concentration en Na⁺ a diminué dans tous les points d'échantillonnages en avril 2016 (figure 3.20). La concentration en Na⁺ a varié de façon significative entre les points d'étude (ANOVA, F=3.266, P=0.002).

2 - Calcium Ca^{2+} (mg.l⁻¹)

Les résultats présentés dans la Figure 3.21 montrent que, les plus fortes concentrations en calcium varient entre 186 et 352 mg.l⁻¹ dans la lagune 1 et entre 273 et 364 mg.l⁻¹ pour AD. Il y a eu une légère augmentation des concentrations dans les lagunes au mois d'avril 2016. La concentration en Ca²⁺ a varié de façon non significative entre les points d'étude (ANOVA, F=24.447, P=5.272).

3 - Magnésium Mg²⁺ (mg.l⁻¹)

Les concentrations les plus faibles en magnésium ont été enregistrées en avril 2016. Alors que la plus forte concentration a été enregistrée en avril 2014, les concentrations ont diminué en avril 2015 dans tous les sites d'étude (Figure 3.22). Les concentrations en Mg^{2+} variaient entre 3.8 et 2.65 mg.l⁻¹. Les concentrations en Mg^{2+} ont varié de façon non significative entre les points d'étude (ANOVA, F=8.286, P= 6.659).

4 - Potassium K^+ (mg.l⁻¹)

Les variations de la concentration en ions potassium sont illustrées dans la (Figure 3.23). Il n'y a pas eu de changements significatifs entre octobre 2013 et avril, octobre 2014. Les concentrations ont ensuite diminué en avril 2015 dans l'ensemble des sites d'étude, la concentration la plus faible en Potassium était de 5.1 mg.l⁻¹ en octobre 2015. La concentration en K⁺ a varié de façon non significative entre les points d'étude (ANOVA, F=4.468, P= 0.0001).



Figure 3.20 : variation saisonnière de la concentration en sodium dans l'eau superficielle et les lixiviats.



Figure 3.21 : variation saisonnière de la concentration en calcium dans l'eau superficielle et les lixiviats.



Figure 3.22 : variation saisonnière de la concentration en magnésium dans l'eau superficielle et les lixiviats.



Figure 3.23 : variation saisonnière de la concentration en potassium dans l'eau superficielle et les lixiviats.

	L1	L1 Milieu	L1	L2	L2	L3	L3	L4	L4	NC	SC	AD	GP	MB
	Amont		Aval	Amont	Aval	Amont	Aval	Amont	Aval					
Fe	223.367	2.620	17.267	1.551	1.391	0.852	0.344	0.307	0.557	6.418	4.440	6.518	-	-
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±		
	355.089	0.978	11.435	1.454	1.711	0.957	0.141	0.101	0.406	2.002	2.023	5.028		
As	478.867	14.317	25.567	8.333	8.300	8.833	8.733	8.350	8.033	25.883	16.900	22.383	5.180	5.200
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	875.310	13.842	20.535	6.759	6.776	7.051	6.640	6.279	5.931	31.410	6.993	15.984	2.835	2.800
Cd	4.767	1.417	1.000	1.000	1.117	1.233	1.083	1.083	1.000	2.883	2.417	2.550	1.270	1.168
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	4.183	0.204	0.000	0.000	0.204	0.163	0.133	0.133	0.000	4.613	1.765	2.190	0.988	0.980
Cr	130.442	5.542	3.971	3.600	3.614	3.657	3.685	3.900	4.000	30.071	4.671	9.357	1.685	9.314
•	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	214.788	2.796	1.386	1.058	1.020	0.907	0.966	1.122	1.092	20.699	0.621	5.713	0.917	19.276
Cu	43.917	4.467	5.900	4.000	4.000	4.267	4.000	4.000	7.217	4.983	4.000	26.200	4.250	4.173
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	47.554	1.143	4.654	0.000	0.000	0.653	0.000	0.000	7.879	1.921	0.000	52.827	2.716	2.846
Ni	29.950	10.033	8.100	5.817	6.317	5.850	5.350	5.233	5.467	8.300	10.317	13.350	2.233	3.833
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	23.400	2.159	2.500	0.783	1.692	1.082	0.446	0.572	0.766	1.817	3.055	2.355	0.983	3.600
Pb	37.516	3.917	5.033	4.683	5.350	4.000	4.483	4.417	4.466	5.500	5.150	4.316	3.200	2.303
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	34.879	0.204	1.645	1.673	3.306	0.000	0.462	0.285	1.143	1.996	1.804	0.775	1.705	1.255
Zn	396.367	31.367	15.700	5.867	15.417	5.050	4.000	4.000	15.950	34.450	6.083	58.883	4.833	4.173
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	392.482	20.964	14.785	1.656	26.055	2.572	0.000	0.000	27.970	26.469	1.221	40.260	2.041	2.846

Tableau 3.1 : teneurs en éléments nutritifs des différents échantillons du lixiviat dans les différentes lagunes du site de la décharge d'Étueffont entre octobre 2013 et avril 2016, (moyenne \pm écart-type) exprimées en mg .l⁻¹ pour le fer et µg .l⁻¹ pour les autres éléments.

3.6 Discussion

3.6.1 Lixiviats

Le pH idéal pour la plupart des organismes aquatiques est compris entre 6,5 et 8,0. En dehors de cette gamme, des dysfonctionnements physiologiques peuvent apparaître. La reproduction peut être affectée par un pH non adapté et certains organismes peuvent même mourir si le pH est trop éloigné de sa valeur optimale. La gamme de pH déterminée montre que l'eau de la lagune est légèrement alcaline, est cette alcalinité provient des ions bicarbonates.

Les processus de biodégradation de la matière organique au sein de la masse de déchets produisent une quantité importante dioxyde de carbone qui une fois dissous se transforme en bicarbonate responsable de l'alcalinité. Une gamme de pH plus élevée indique une plus grande productivité dans l'eau pendant son passage dans les lagunes au contact des déchets ; il y a dès lors un développement de bactéries qui dégradent la matière organique et un développement de micro-algues qui à travers la photosynthèse consomment le CO_2 dissous dans l'eau (**Bouarab, 2000 ; Elhachemi et al., 2012**).

La diminution des valeurs de pH enregistrée en avril 2015 peut être due au ralentissement de l'activité photosynthétique consommatrice de protons H^+ mais aussi en raison d'une solubilité plus élevée du CO₂ en relation avec la baisse de la température conduisant à une formation plus importante d'acide carbonique (**Ben Salem, 2014**).

Les variations de pH observées sont probablement liées à un certain nombre de facteurs tels que, l'infiltration de l'eau de pluie et les effets de dilution lors de la saison des pluies. Cependant, les valeurs de pH observées restent dans ce qui serait considéré comme une zone relativement normale **Ahmed**, (2008). En comparaison avec les données de la littérature, les valeurs de pH mesurées dans les différentes lagunes montrent qu'elles sont plus élevées par rapport à celles mesurées par **Magda et al.** (2015 ; pH 7.8), **Akujize et al.** (2015 pH 7.5) et convergentes avec l'étude de **Ben Salem** (2014 ; pH 7.2 - 8.1).

La température de l'eau est un paramètre essentiel dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques. Elle dépend de l'ensoleillement et des échanges avec l'atmosphère. Dans cette étude, le profil de température des eaux de surface des lagunes d'Etueffont a montré des variations saisonnières normales.

La température a une influence sur la vie de tous les organismes. Pendant la période d'étude, la température dans les quatre lagunes a été comprise entre 10,3 -19,9 °C, valeurs comparables à celles obtenues par **Khattabi** (2002); **Belle** (2008) et **Ben Salem** (2014) au cours de leurs travaux sur la décharge d'Étuffont. Cette variation de la température est principalement liée aux conditions météorologiques (**Adebowale et al., 2008**). La température du lixiviat de la lagune 1 est généralement légèrement supérieure à celle des autres lagunes en raison du réchauffement du lixiviat brut.

La conductivité et les matières totales dissoutes sont généralement influencées par la quantité de matières organiques et inorganiques dissoutes présentes dans la solution, et sont utilisées respectivement pour déterminer le niveau de salinité et le contenu en minéraux dans le lixiviat. La teneur totale en éléments reflète davantage la force et la charge polluante globale du lixiviat. La salinité du lixiviat est liée à la présence de sels de potassium, sodium, chlorure, nitrate, sulfate et ammoniac. Les valeurs élevées observées dans le lixiviat semblent résulter de la dégradation de la matière organique, en accord avec les travaux de **Naveen et al. (2014**).

Par rapport aux résultats obtenus par **Khattabi** (2002), **Belle** (2008) et **Ben Salem** (2014), la présente étude a mis en évidence une forte diminution de la conductivité dans les quatre lagunes et en particulier dans la lagune 4. Cela reflète une nette amélioration de la qualité du lixiviat au cours du temps.

La matière organique rejetée dans le lixiviat est considérée comme un bon indicateur de l'état de dégradation des déchets, car elle subit plusieurs transformations au cours des différentes étapes de la dégradation. La demande chimique en oxygène fait partie des principaux paramètres dont la mesure est imposée par la règlementation. Cette mesure permet de déterminer la quantité de matière oxydable présente dans le lixiviat et d'estimer la quantité de matière organique. Toutefois, certains composés tels que des hydrocarbures aromatiques ou des hétérocycles (pyridine) ne sont pas oxydés par ce procédé. Le carbone organique dissous se révèle être le paramètre le plus approprié pour évaluer la quantité de matière organique contenue dans un lixiviat.

Le rapport DBO / DCO indique l'âge de remplissage des déchets (**Hui, 2005**), mais aussi les changements dans la quantité de composés biodégradables présents dans le lixiviat. Lorsque l'eau des déchets, présente un rapport DBO5 / DCO supérieur à 0,63, elle peut être considérée comme tout à fait contrôlée pour le traitement biologique, car elle ne contient pas de matières organiques non biodégradables (**Navee, et al., 2013**). Le rapport DBO5 / DCO est utilisé pour

estimer la biodégradabilité de la matière organique (**Reinhart & Grosh, 1998**). Ce ratio est généralement corrélé à l'âge du lixiviat et donc au degré d'achèvement de la stabilisation du massif. Une réduction de ce rapport (et donc de la biodégradabilité) est observée avec l'augmentation de l'âge des déchets (**Qasim et Chiang, 1994 ; Kang et al., 2002**).

Nos résultats montrent une baisse des teneurs en matières organiques contenues dans le lixiviat lors de son passage d'un bassin à l'autre. Cette diminution est probablement liée à des phénomènes de sédimentation et à la dégradation de la matière organique oxydable par des micro-organismes, nos résultats concordent avec ceux présentés par (**Khattabi, 2002**).

La composition chimique du lixiviat est spécifique de chaque décharge. En effet, elle varie en étroite relation avec : la nature et l'âge de la décharge, le type de déchets et le degré de décomposition, la méthode de mise en décharge, les conditions d'enfouissement et la météorologie (Matejka et al., 1994 ; Khattabi 2002 ; Renou et al., 2008).

Le rapport DBO / DCO est également faible, lorsque la majeure partie de la matière organique dégradable dissoute est consommée par la population microbienne. Cependant, les concentrations de molécules organiques plus stables, comme les acides humiques et fulviques, augmentent (**Barlaz et al., 2002**).

Il y a une diminution progressive des valeurs de bicarbonate dans tous les sites de collecte d'échantillons. Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées en octobre 2013, et les valeurs les plus basses en avril 2015. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Grizy (2014)**. Le bicarbonate présente les plus fortes concentrations en anions majeurs (HCO_3^- , Cl, F⁻ et SO₄) avec un maximum de (1240 mg .l⁻¹) dans la lagune 1 et un minimum de (267 mg .l⁻¹) dans la lagune 4, résultats en accord avec les travaux de (**Ben Salem ,2014**). Les bicarbonates sont des paramètres importants pour évaluer l'efficacité de l'effet tampon du lixiviat sur le pH. Leur croissance et décroissance respectives impliquent que le CaCO₃ est utilisé pour tamponner des changements de pH (**Statom et al., 2004**). Les valeurs de pH sont essentiellement > 7 au cours de la période de suivi dans l'ensemble de l'ancienne décharge, ce qui empêche une libération excessive de métaux sensibles aux variations de pH (**Baverman 1997**).

Les concentrations en nitrates dans les lagunes d'Étueffont présentent une large gamme de valeurs (1-34 mg.l⁻¹) entre les sites d'échantillonnage. Ceci est cohérent avec les travaux de (**Ben Salem, 2014**) et **Grizy (2013**) qui ont obtenu des résultats similaires. Les valeurs de

cette étude sont cependant moins élevés que celles rapportées par **Nyame et al. (2012) et Kazemi et al. (2013)**. Une étude récente a montré que les concentrations de nitrite dans les lagunes sont comprises entre 0,11 et 23 mg.l⁻¹, avec des niveaux élevés soutenues dans la lagune 1, par rapport aux autres lagunes. Cela est en accord avec **Samkari (2004)** qui a observé des concentrations similaires. Les nitrates représentent la forme la plus oxydée de l'azote trouvé dans le système naturel, et sont souvent considérés comme des indicateurs non équivoques de la pollution domestique et agricole. Dans l'échantillon de lixiviat, les nitrates sont principalement formés par suite de l'oxydation de l'ammonium en nitrite et ensuite en nitrates par nitrification.

La plus forte concentration en ammonium été observée dans la lagune 1 et les valeurs les plus faibles dans la lagune 4. Les concentrations en ammonium observées dans la présente étude sont moins élevées que celles publiées par **Han et al. (2013)** et **Magda et al. (2015)**.

L'ammonium est la forme la plus importante de l'azote total. L'évolution spatiale de l'ammonium est similaire à celle de l'azote Kjeldahl. Des teneurs plus faibles ont été systématiquement enregistrées entre les lagunes 1 et 2, alors qu'il y a une diminution progressive dans les deux dernières lagunes. Ces résultats concordent avec ceux présentés dans l'étude de **Ben Salem (2014)**. L'ammonium est présente dans toutes les eaux naturelles, même seulement à des concentrations très faibles. Les principales sources d'entrée de l'ammonium dans l'environnement sont les eaux de ruissellement l'excrétion par zooplancton, la re-minéralisation de la matière organique, les rejets d'eaux usées et la décomposition des matières animales et végétales (**Ketchum, 1962 ; Verlencar, 1987 et Seager et al ., 1988**).

Comme pour le phosphore total, toutes les valeurs dans nos échantillons ont diminué. Le phosphore total était présent dans le lixiviat avec une concentration initiale de 4590 mg.l⁻¹ dans la lagune 1, ceci est compatible avec **Ben Salem** (**2014**).

Toutefois, pour les chlorures, la légère augmentation en avril est liée à une arrivée d'eau liée à la fonte des neiges. Cela est probablement attribuable à leur forte dépendance sur les conditions physico-chimiques (**Khattabi, 2002**). Les ions PO_4^{3-} ne se trouvent normalement que dans les déchets de lixiviat, les orthrophosphates semblent en effet être rapidement emportées ou consommé par les micro-organismes. La présence de phosphore est dépendante de certaines catégories des déchets telles que les os, les déchets putrescibles non classés incombustibles (**ADEME, 1999**).

Les sulfites sont généralement fortement présents dans le lixiviat (**Robinson et Lucas, 1985**), ou pendant les phases de dégradation (acétogène et méthanogène) dans des conditions anaérobies. Lorsque le potentiel redox est faible, les sulfates sont réduits en sulfures et sont souvent associés à des espèces métalliques (**Berthe, 2006**). Le sulfate présent dans le lixiviat des décharges provient principalement de la décomposition des matières organiques, de déchets solubles, comme les déchets de construction ou de la cendre, de détergents synthétiques et des déchets inertes, comme des sédiments fluviaux dragués.

La distribution spatiale du phosphore total a montré dans toutes les lagunes une concentration régulière pendant les périodes de d'échantillonnage. La base du système de lagunage du site d'Étueffont est recouverte par une couche d'argile. La liaison du phosphore aux particules d'argile est proportionnelle à la vitesse d'écoulement de l'eau (**Braskerud**, 2002 ; **Ben Salem**, 2014). Le phosphore est un des éléments nécessaires à la croissance des plantes et des animaux c'est également un élément constitutif de l'acide désoxyribonucléique (ADN). Le phosphore provenant des terres agricoles peut favoriser l'eutrophisation, qui est l'un des principaux problèmes de la qualité de l'eau dans les lacs et les réservoirs (USEPA, 2005).

Le calcium, le magnésium, le sodium et le potassium sont généralement les principaux cations présents dans le lixiviat. Dérivés de matériaux présents dans les déchets au moyen du processus de transfert de masse, la concentration de ces cations dans le lixiviat est spécifique de la composition et de la masse de déchets ainsi que de la phase de stabilisation qui règne dans la décharge (**Christensen et al., 2001**).

Le sodium et le potassium ne sont pas affectés de façon significative par les activités microbiologiques dans le site d'enfouissement. Ces ions jouent un rôle important dans la physiologie de la plante et sont probablement dérivés de résidus végétaux et des déchets domestiques. L'augmentation de la concentration en potassium dans l'eau du sol est souvent considéré comme un indicateur de la pollution par le lixiviat (**Christensen et al., 2001 ; Navee et al., 2014**). La principale source de potassium est due aux intempéries à l'érosion de minéraux tels que le feldspath et au lessivage des engrais. Le sodium est un nutriment essentiel et des niveaux adéquats sont nécessaires pour une bonne santé. Le sodium et le potassium ne sont pas affectés de manière significative par les activités microbiologiques dans le site d'enfouissement. Le calcium est l'un des cations plus communs trouvés dans les réservoirs d'eau souterrains, il se dissout à partir de roches, comme le calcaire, le marbre, la

calcite, la dolomite, le gypse, la fluorine et l'apatite. En outre, avec le magnésium, il est l'un des principaux cations associés à la dureté de l'eau (**Harmsen, 1983**).

3.6.2 Métaux dans les lagunes

La quantité et la qualité du lixiviat sont influencées par la quantité, la composition et l'humidité des déchets solides, aussi bien que par des facteurs locaux (les conditions hydrogéologiques, le climat), la hauteur et le type de décharge (Johansen et Carlson, 1976 ; Chu et al., 1994). La composition du lixiviat de décharge montre souvent des variations saisonnières significatives (Christensen et al., 2001). Durant la saison des pluies, un volume élevé de lixiviat est produit, tandis que pendant la saison sèche, il y aura une diminution des précipitations et une évaporation accrue (Mangimbulude et al., 2009). Des variations des paramètres caractéristiques de la composition du lixiviat dépendront non seulement de la saison, mais aussi de l'âge de la décharge (Chen, 1996 ; Christensen et al., 2001 ; Fan et al., 2006). Les faibles concentrations en éléments traces métalliques dans les lixiviats sont principalement liées aux réactions d'adsorption et des réactions de précipitation (co-existences d'anions sulfures, de carbonate ou d'hydroxyde) favorisées par l'augmentation graduelle du potentiel redox, avec l'âge de la décharge (Lo, 1996).

Les niveaux élevés en métaux dangereux dans les déchets solides municipaux rend nécessaire un contrôle continu de ces derniers après le dépôt des déchets (**Rieber, et al., 2005**).

Les métaux traces peuvent aussi se former lorsque les concentrations en carbonates et en bicarbonate dans l'eau sont élevées. Bien que les carbonates soient moins stables que les sulfures, ils peuvent encore jouer un rôle important dans le piégeage des ETMs initiaux (Sheoran et Sheoran, 2006). La précipitation des carbonates est particulièrement efficace pour l'accumulation de plomb et de nickel dans les zones humides (Lin et al., 1998). En conséquence, nous pouvons supposer que l'absence de nickel et de plomb résulte de la formation de complexes avec le bicarbonate, qui est présent à un niveau élevé.

Les concentrations moyennes en fer, aluminium, manganèse, cuivre, plomb, cadmium, chrome et nickel sont inférieurs aux standards de **WHO** (2002). La qualité des eaux de lixiviation du site d'enfouissement d'Étueffont s'est fortement améliorée au cours du temps, ce que confirment les faibles niveaux d'ETMs détectés, la diminution de la conductivité et

l'augmentation du pH. Les résultats de cette étude sont en accord avec les travaux de **Ben Salem (2014)** qui a rapporté des valeurs convergentes au niveau des métaux lourds.

D'une manière générale, la concentration en métaux du lixiviat était faible par rapport à celle précédemment enregistrée (**Crazy, 2013 et Ben Salem, 2014**). Cela a été particulièrement bien observé dans les échantillons prélevés durant la saison des pluies où presque tous les métaux étaient sous la limite de détection. Cela est sans doute le résultat de la dilution des eaux des lagunes par l'eau de pluie, lors des précipitations.

La majorité des composants du lixiviat de la décharge d'Étueffont présente des concentrations basses, en comparaison avec les niveaux de concentration indiqués dans la littérature (Farquhar, 1989 ; Christensen et al., 2001).

Plusieurs métaux lourds ont été identifiés dans le lixiviat mais des concentrations faible comme pour le Mg, le Fe, le Cd, le Cr, le Co, le Cu, le Pb, le Ni et le Zn. La migration des métaux lourds à partir des déchets peut durer plusieurs années dans des décharges (**Jensen et al., 1999**). Cette capacité de migration peut être améliorée par la formation de complexe très stable avec la matière organique et l'existence de matières colloïdales dans le lixiviat (**Christensen et al., 1996**).

Le lixiviat de décharge contient typiquement de l'eau, mais avec peut présenter une grande quantité de composés organiques et inorganiques dont les métaux lourds en raison de leur relargage à partir de certains déchets présents dans les décharges (**Cecen et Gursoy, 2000**). La composition du lixiviat de décharge varie significativement au cours du temps. Parmi les facteurs qui contribuent à la production et à la composition de lixiviat, le climat est l'un des plus importants, mais d'autres paramètres entrent également en jeu, comme : l'emplacement, la conception et l'opération, l'âge et le type de décharge, la gestion et la composition des déchets (**Baun et al 2004; Ozkaya et al., 2005; Pinel-Raffaitin et al., 2006; Jeong-Hoon et al., 2001; Słomczyńska et al., 2004**).

Les métaux lourds sont des composants typiques du lixiviat et représentent ainsi des paramètres essentiels pour sa caractérisation. Les ETMs peuvent constituer un problème environnemental si le lixiviat migre dans l'eau de surface ou dans l'eau souterraine (**Gupta**, **2009**).

Les métaux dissous peuvent être transférés de la phase aqueuse à la phase solide (la distribution de phase) par le processus d'adsorption, un processus qui est d'habitude

entièrement ou partiellement réversible (désorption). (**Bradl 2004 ; Boulding et al., 2004**). Ce processus joue un rôle clé dans la mobilité de quelques métaux lourds. Par exemple celle du nickel peut être contrôlée par la capacité de divers adsorbants comme des argiles, des oxydes de fer, des oxydes de manganèse et la matière organique, bien que le nickel soit un des métaux les plus mobiles dans l'environnement aquatique (**USEPA, 1995**).

La présence de niveaux élevés en métaux lourds dans le lixiviat suggère, que leurs origines pourrait être liée à différents déchets déversés dans la décharge. La présence d'une forte concentration en Fe dans le lixiviat indique que des ferrailles ont probablement été déversés dans la décharge. Des niveaux élevés en plomb sont généralement attribué à l'élimination de piles, de peintures à base de plomb et de tuyaux de plomb (**Moturi et al., 2004**). Une valeur élevée en Zn peut être attribuée à la présence de tubes fluorescents, de batteries et d'une variété de déchets alimentaires ainsi que de pneus brûlants sur le site. Le rejet des piles sèches et des pots de peinture sont des sources possibles de cadmium.

La présence de plomb et de cadmium dans les lixiviats de décharge et leur absence dans tous les échantillons d'eau souterraines peuvent être attribuées à la géologie du sous-sol du site qui se compose d'argile. Ces deux métaux ont tendance à être adsorbés par le sol argileux (**Mor et al., 2006 ; Longe et Enekwehi, 2007**).

Un niveau élevé en Fe (70,62 mg.l⁻¹) dans l'échantillon de lixiviat indique que des déchets ferreux sont également déversés dans la décharge. La couleur brun foncé du lixiviat est d'ailleurs attribuable à l'oxydation de ces métaux ferreux en forme ferrique ainsi qu'à la formation de colloïdes et de complexes hydroxydes ferriques avec les substances humiques / fulviques (**Chu et al., 1994**). La présence de Zn (2,21 mg.l⁻¹) dans les échantillons de lixiviat indique que la décharge reçoit des déchets de piles et de lampes fluorescentes. La présence de Pb (1,54 mg.l⁻¹) suggère l'élimination de piles, de produits chimiques pour les peintures et les tuyaux (**Moturi et al., 2004 ; Mor et al., 2005**). Le Cr (0,29 mg.l⁻¹), le Cu (0,93 mg.l⁻¹) et le Ni (0,41 mg.l⁻¹) étaient également présents dans les échantillons de lixiviat. Une variété de déchets est déversée au site d'enfouissement Gazipur, ce qui explique probablement la présence de Zn, Pb, Cr, Cu et Ni dans le lixiviat (**Moturi et al., 2004 ; Mor et al., 2005**). Christensen et al., **1994** ont également signalé la présence de ces composés dans le lixiviat.

Conclusion

Les résultats de la présente étude montrent que la composition du lixiviat est tributaire de plusieurs contraintes dont les principales sont : météorologiques, hydrologiques et dépendantes de l'âge de la décharge. Généralement la diminution temporelle des teneurs en ETMs (Al, Ag, As, B, Cd, Cr, Cu, Sn, Fe, Mn, Ni, Pb, Se et Zn) ainsi que des autres éléments chimiques (P, PO₄, NH₄, NK, NO₂, NO₃, Ca, K, Mg, Na, Cl, F, HCO₃ et SO₄) et physique (conductivité) depuis l'amont vers l'aval du système de lagunage justifie son importance dans l'amélioration de la qualité du lixiviat. La présente étude montre que le site de la décharge d'Étueffont est en phase méthanogène en raison d'une part d'un pH à tendance basique, d'un refroidissement modéré des lixiviats et d'autre part, par les faibles concentrations en ETMs détectées. L'indice de la pollution métallique diminue en s'éloignant de la source de rejet du lixiviat brut (amont de la lagune 1).

Il n'est pas détecté d'anomalie sur les résultats d'analyses. Les teneurs détectées dans le ruisseau du Mont Bonnet et le ruisseau des Gros Prés au niveau de leur confluence sont inférieures aux seuils de l'arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique.

Globalement, la conductivité des lixiviats diminue progressivement dans le système de gestion. Le pH des lixiviats est nettement plus faible que celui mesuré dans les ruisseaux du Mont Bonnet et du Gros Prés.

Les analyses montrent des teneurs en sortie du système de gestion et de traitement des lixiviats (lagune 4 aval) compatibles avec les valeurs réglementaires de l'arrêté du 9 septembre 1997 relatif aux installations de stockage de déchets non dangereux (annexe III). Globalement, le système fonctionne très bien avec des abattements souvent supérieurs à 70% entre le début de la première lagune et la sortie de la 4^{ème} lagune.

Sur les paramètres analysés en sortie du système, les teneurs sont même compatibles avec les valeurs seuils de l'arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique.

Une seule anomalie est détectée sur le ruisseau du Gros Prés : la concentration en phénols dépasse légèrement le seuil de l'Arrêté du 9 septembre 1997 relatif aux installations de

stockage de déchets non dangereux, qui est identique à celui de l'arrêté du 11 janvier 2007 pour les eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine. Cette anomalie, qui affecte également les eaux souterraines en teneurs plus faibles, n'a actuellement pas d'origine connue.

Ce paramètre n'étant pas mesuré sur le système de gestion des lixiviats de l'ISDND, on ne peut ni infirmer ni confirmer son rôle dans l'impact mis en évidence sur le ruisseau aval. Dans le contexte forestier avec la présence de conifères sur lequel le site se trouve, une origine naturelle (pouvant être saisonnière) n'est pas à exclure.

Il n'est pas détecté d'anomalie sur les résultats d'analyses du ruisseau nommé « Mont Bonnet ».

Le Sous-Casier se rejette dans le fossé qui devient le ruisseau des Gros Prés sauf lors d'épisodes secs où les eaux sont dirigées vers les lagunes pour garantir un niveau suffisant dans celles-ci.

En octobre 2014, un dépassement de la teneur en phénols a été observé dans le ruisseau des Gros Prés, en aval de l'ISDND. Aussi, des analyses de ce paramètre ont été ajoutées sur les rejets en milieu naturel, à savoir la sortie de la Lagune 4 et le Sous-Casier.

La teneur observée dans l'échantillon du Sous Casier (SC) dépasse les 100 µg.l⁻¹ fixé par l'arrêté du 9 septembre 1997 relatif aux installations de stockage de déchets non dangereux (annexe III) pour l'indice phénol.

Chapitre 4 Contamination métallique des sédiments du site de la décharge d'Étueffont

4.1 Introduction

Bon nombre de sédiments présents dans les rivières, les lacs et les océans ont été contaminés par les polluants. Parmi ces polluants, certains sont rejetés directement par les installations industrielles et les usines municipales de traitement des eaux usées, d'autres proviennent de ruissellements pollués dans les zones urbaines et agricoles, enfin certains résultent d'une contamination historique (Eshun, 2011). Le problème de la pollution par les métaux lourds est d'attirer l'attention des gens partout dans le monde, en raison de ses effets négatifs sur l'environnement et sur la santé humaine (Eshun, 2011). Avec l'augmentation de l'urbanisation et l'industrialisation, il y a une augmentation rapide de la production municipale des déchets (eaux usées et effluents industriels), qui à son tour a intensifié la pollution de l'environnement. L'élimination appropriée des effluents industriels et des déchets municipaux est donc un problème majeur pour les grandes villes. Les principales sources de contamination des eaux de surface peuvent être attribuées à des rejets industriels, l'élimination des déchets domestiques et l'application de produits agrochimiques sur les terres agricoles (Kennicutt et al., 1992). Dès que des polluants comme les métaux lourds sont présents dans le milieu aquatique, ils peuvent s'accumuler dans les tissus d'organismes aquatiques. Le montant de l'absorption et l'assemblage dépend des conditions biologiques, écologiques, physiques, chimiques et aussi du type d'élément et de la physiologie des organismes (Jaffa et al., 1998). Après leur assimilation par les organismes aquatiques, les métaux entrent dans la chaîne alimentaire pour être finalement consommés par les êtres humains (Agbozu et al., 2007). Les effets de ces métaux sur les consommateurs dépendent de leur concentration, de leur propriétés physico-chimiques, des liaisons chimiques et de leur répartition dans le corps (Gharib et al., 2003). Les écosystèmes aquatiques sont très vulnérables car ils sont les réservoirs naturels de plusieurs polluants y compris les métaux (Udosen, 2006). Les écosystèmes aquatiques sont notamment souvent pollués par des niveaux anormalement élevés de substances toxiques (substances organiques et inorganiques), qui s'accumulent avec les eaux usées et les effluents générés par les entreprises industrielles. On peut donc retrouver des métaux lourds dans les écosystèmes aquatiques, les organismes aquatiques ou dans bien encore les sédiments (Udosen, 2006).

Les sédiments contaminés peuvent menacer les animaux présents dans le milieu benthique, comme les crustacés et les insectes. Certains sédiments pollués peuvent être létaux pour les organismes benthiques, ce qui réduit la nourriture disponible pour les plus gros animaux comme les poissons (**Pan et Brugam, 1997**). Les polluants présents dans les écosystèmes

aquatiques précipitent sur la surface des sédiments et se comportent comme des polluants déposés. Il est bien établi que les sédiments jouent un rôle important en tant que puits et source pour les contaminants métalliques (Li et Thornton, 2001). Les sédiments sont naturellement constituées d'un mélange complexe de composants organiques et inorganiques comme les argiles, les silicates, le carbonate, les sulfures, les minéraux et les bactéries. Les sédiments contaminés ne restent pas toujours au fond d'une masse d'eau. Tout ce qui engendre des mouvements d'eau, comme le dragage, peut remettre en suspension des sédiments. Cette remise en suspension peut signifier que tous les animaux aquatiques et pas seulement les organismes benthiques seront directement exposés à des contaminants toxiques (Pan et Brugam, 1997).

4.2 Matériels et méthodes

4.2.1 Suivi du système de gestion des boues

Afin de suivre l'évolution à long terme des lixiviats du système de lagunage, 6 campagnes ont été réalisées (octobre 2013-avril 2016) selon un pas de temps semestriel (Figure 4.1).



Figure 4.1 : chronologie des différentes campagnes de prélèvement des sédiments.

4.2.2 Procédure d'échantillonnage du sédiment

Une série de prélèvements (Pvt) de boue, a été effectuée directement dans les lagunes (Figure 4.2) : à l'aide d'une benne à sédiment Van Veen (Photo 4.1)

Lagune 1 : 3 prélèvements (amont 1pvt –milieu 1pvt –aval 1pvt)

Lagune 2 : 2 prélèvements (amont1pvt –aval1pvt)

Lagune 3: 2 prélèvements (amont1pvt -aval 1pvt)

Les échantillons de boue ont été collectés dans des bouteilles (1 litre) en plastique propres, et transportées au laboratoire pour analyse (Tableau 4.1). Les analyses géochimiques ont été effectuées par le laboratoire Qualio de l'Université de Franche Comté.



Figure 4.2 : implantation sur image satellite Google Earth des prélèvements de boue.



Photo 4.1 : détail de la benne à sédiments Van Veen utilisée sur site.

Tableau 4.1 : Liste des éléments analysés en laboratoire sur les boues du système de gestion des lixiviats.

Matières sèches	g.kg ⁻¹	Phosphore	g.kg ⁻¹
Calcium	g.kg ⁻¹	Plomb	mg.kg⁻¹
Magnésium	g.kg⁻¹	Chlorures	mg.kg⁻¹
Sodium	g.kg⁻¹	Bicarbonates	mg.kg⁻¹
Potassium	g.kg⁻¹	Fluorures	mg.kg⁻¹
Aluminium	g.kg⁻¹	Nitrates	mg.kg⁻¹
Arsenic	mg.kg⁻¹	Nitrites	mg.kg⁻¹
Cadmium	mg.kg⁻¹	Sulfates	mg.kg⁻¹
Chrome	mg.kg⁻¹	СОТ	g.kg⁻¹
Cuivre	mg.kg⁻¹	Bore	mg.kg⁻¹
Nickel	mg.kg⁻¹	Azote Ammoniacal par distillation	mg.kg⁻¹
Sélénium	mg.kg⁻¹	Azote Kjeldahl sur solide	mg.kg⁻¹
Zinc	Mg.kg⁻¹	Fer	g.kg⁻¹
Manganèse	g.kg⁻¹	Argent	mg.kg⁻¹
Etain	mg.kg⁻¹		

4.2.3 Préparation et analyse des échantillons

Afin d'éliminer les fragments de plantes, le tamisage des échantillons a été réalisé à travers un polypropylène de 5.0 mm de porosité. Les échantillons du sédiment ont ensuite été laissés à stabiliser. Des sous-échantillons ont été congelés à -18 °C puis lyophilisés à -50 °C, selon l'Annexe A de la norme NF EN 13346. Chaque échantillon a été homogénéisé à l'aide d'un mortier et d'un pilon puis tamisé à l'aide d'un tamis de 2.0 mm de maille. Le mortier, le pilon et le tamis ont été nettoyés avant et après chaque échantillon puis rincés avec de l'eau distillée.

Un gramme de chaque échantillon de sédiment a été dissous par 3 ml de HNO₃, 9 ml de HCl avant d'être minéralisé à 105°C pendant 3 heures dans le système de solubilisation par microondes. Les concentrations des ETMs dans les sédiments ont été déterminées par ICP-OES (720-ES, VARIAN). Les matériaux de référence, CRM 029, ont été analysés au début et à la fin de chaque série de tests afin d'évaluer l'exactitude et la précision. Les données recueillies ont été soumises à une analyse unidirectionnelle de variance (ANOVA), et ont été utilisées pour déterminer si les échantillons variaient significativement entre les points d'étude, les possibilités de moins de 0,05 (p <0,05) étant considérées comme significatives d'un point de vue statistique.

4.3 Résultats

1 - Matière sèche (g.kg⁻¹)

Les résultats présentés dans la (Figure 4.3) font référence à la quantité de matière sèche dans les quatre lagunes, pour l'ensemble des périodes d'étude. Au niveau de la lagune 1, les valeurs de matière sèche variaient entre 101 et 162 g.kg⁻¹ MS en amont, 194 et 308 g.kg⁻¹ MS au milieu et 139 et 255 g.kg⁻¹ MS en aval.

Dans les lagunes 2, 3 et 4 les valeurs variaient respectivement entre 35 et 240 g.kg⁻¹ MS, 138 et 451 g.kg⁻¹ MS et 89 et 382 g.kg⁻¹ MS. Les valeurs les plus élevées mesurées au cours de l'étude ont concerné l'aval de la lagune 1.

La quantité de matière sèche dans les quatre bassins était répartie comme suit pour l'ensemble de la période d'étude:

lagune 1 >lagune 3 >lagune 4 >lagune 2

Pour chaque lagune, la quantité de matière sèche à l'entrée était inférieure à celle en aval. La concentration de matière sèche a varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=1.176, P=0.340).

2- Calcium (Ca²⁺) g.kg⁻¹, magnésium (Mg²⁺) g.kg⁻¹, sodium (Na⁺) g.kg⁻¹ et potassium (K⁺) g.kg⁻¹

-Dans la lagune 1, la concentration en ions calcium était comprise entre 82.4 et 117 g.kg⁻¹ MS en amont 89.5 et 267 g.kg⁻¹ MS au milieu et 51.3 et 70.3 g.kg⁻¹ MS en aval. Dans les lagunes 2,3 et 4 les valeurs variaient respectivement entre 46.5 et 99.3 g.kg⁻¹ MS, 12 et 89,4 g.kg⁻¹ MS

et 14.4 et 82.3 g.kg⁻¹ MS (Figure 4.4). La concentration en Ca^{2+} varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=13.010, P= 1.378).

- Les concentrations en magnésium diminuaient progressivement au niveau des lagunes 2 et 3 en octobre 2014. Cependant, ces concentrations étaient presque stables au niveau de la lagune 3 et variaient de 3.43 et 4.96 mg kg⁻¹ MS pendant toute la période d'étude. À partir de la campagne du mois d'avril 2016 les concentrations en magnésium au niveau de la lagune 1 atteignaient 931 mg kg⁻¹ MS et diminuaient progressivement pour atteindre une valeur minimale de l'ordre de 3.8 mg kg⁻¹ MS au niveau de la lagune 2 (Figure 4.5). Dans la lagune 4 la concentration en magnésium variait entre 4.18 et 12.8 g.kg⁻¹ MS. La concentration en Mg²⁺ variant de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=0.970, P= 0.474).

-La plus forte concentration d'ions sodium a été mesurée en avril 2016. Dans lagunes 1, 2, 3 et 4, les valeurs de concentration en Na⁺ atteignaient respectivement 719, 517, 428 et 431 g.kg⁻¹ MS. La concentration en Na⁺ a été >1 g.kg⁻¹ MS pendant les autres périodes de l'étude sur l'ensemble des lagunes (Figure 4.6). La concentration en Na⁺ a varié de façon significative entre les lagunes (ANOVA, F=4.161, P= 0.002).

-. Les valeurs de concentration en ions potassium dans les lagunes 1, 2, 3 et 4 variaient respectivement entre 0.82 et <20 g.kg⁻¹ MS, 1.79 et 3.69 g.kg⁻¹ MS, 2.8 et 4.51 g.kg⁻¹ MS et 2.36 et <20 g.kg⁻¹ MS. Durant la période d'étude, la concentration la plus élevée en ions potassium a été relevée dans la lagune 4 (Figure 4.7). La concentration en K⁺ a varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=1.204, P= 0.325).



Figure 4.3: variations spatiotemporelles des concentrations de Matière Sèche (exprimées en g kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.



Figure 4.4: variations spatiotemporelles des concentrations en calcium (exprimées en g kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.



Figure 4.5: variations spatiotemporelles des concentrations en magnésium (exprimées en g kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.



Figure 4.6: variations spatiotemporelles des concentrations en sodium (exprimées en g kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.


Figure 4.7: variations spatiotemporelles des concentrations en potassium (exprimées en g kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.

3 -Aluminium (Al³⁺) g.kg⁻¹MS

Les concentrations en aluminium à l'interface eau sédiment ont augmenté progressivement en amont de la première à la dernière lagune pendant la période d'échantillonnage. Il y a une diminution de la concentration en aluminium dans la lagune 1, où la valeur la plus élevée a été de 18.7 g.kg⁻¹ MS au mois d'avril 2016 et la valeur la plus faible de (2.68 g.kg⁻¹ MS) au mois d'avril 2015. Des concentrations élevées d'ions aluminium ont été mesurées dans la lagune 4 16.8 et 29 g.kg⁻¹ MS. Dans les lagunes 2 et 3 les valeurs variaient respectivement entre 8.2 et 24.5 g.kg⁻¹ MS et 13.4 et 24.5 g.kg⁻¹ MS (Figure 4.8 et tableau 4.2). La concentration en Al³⁺ a varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=6.710, P=2.325).

4 -Arsenic (As³⁺) mg.kg⁻¹MS

La variation saisonnière de la concentration en arsenic est illustrée dans la Figure 4.9 avec une diminution graduelle de la lagune 1 à la lagune 4 pendant toute la période d'étude. Les concentrations maximales dans les lagunes 1, 2, 3 et 4 atteignaient respectivement 872, 85.8, 40.3 et 45.1 mg.kg⁻¹. La concentration en As³⁺ varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=30.236, P=9.486).

5 - Cadmium (Cd²⁺) mg.kg⁻¹MS

Le cadmium est l'élément le moins détecté dans les échantillons de sédiments prélevés dans les quatre lagunes. La concentration maximale de 4.5 mg.kg⁻¹ a été enregistrée dans la lagune 1 amont en octobre 2015 et avril 2016. Il y a eu une légère augmentation de la concentration de cadmium durant l'échantillonnage en octobre 2015, puis les concentrations en cadmium ont diminué progressivement durant le mois d'avril 2016 dans toutes les lagunes (Figure 4.10). La concentration en Cd²⁺ a varié de façon significative entre les lagunes (ANOVA, F=3.531, P=0.004).

 $6 - Chrome (Cr^{2+}) mg.kg^{-1}MS$

Il existe des variations de concentration en chrome pendant les périodes d'échantillonnage dans toutes les lagunes. Les résultats sont présentés dans la Figures 4.11. Les concentrations en chrome étaient élevées dans le secteur amont de la lagune 1, avec des valeurs comprises entre 131 et 249 mg.kg⁻¹. La concentration en Cr^{2+} a varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=9.400, P=6.770).

7 - Le cuivre (Cu⁺) mg.kg⁻¹MS

La distribution spatio-temporelle de la concentration en cuivre a révélé une disparité entre les quatre lagunes (Figure 4.12). La concentration la plus élevée (259 mg.kg⁻¹ MS) était observée en octobre 2013 était dans la lagune 4 et la plus faible (42,5 mg.kg⁻¹MS) en octobre 2015 dans la lagune 1. Il y a eu une diminution de la concentration en cuivre au cours du mois d'avril 2015 dans la lagune 1, accompagnée d'une augmentation de la concentration au niveau des autres lagunes ce même mois. La concentration en Cu⁺ a varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=10.307, P=2.351).

8 -Le Nickel (Ni²⁺) mg.kg⁻¹MS

D'une façon générale, la distribution spatiale des concentrations en Nickel au cours de la période d'échantillonnage est restée relativement stable. Les concentrations les plus élevées en Ni²⁺ dans les lagunes ont été enregistrées en octobre 2013 alors que les plus faibles ont été relevées en octobre 2014 pour la plupart (Figure 4.13). Les concentrations en Ni²⁺ dans la lagune 1 ont varié entre 13 et 71.7 mg.kg⁻¹MS. Il y a une augmentation de la concentration pour le mois d'octobre 2015 dans les lagunes 2, 3 et 4 où en amont. La concentration en Ni²⁺ a varié respectivement entre 28.9 et 49.8 mg.kg⁻¹MS, 29.2 et 46.8 mg.kg⁻¹MS et 37.1 et 51.4

mg.kg⁻¹MS. La concentration en Ni²⁺ a varié de façon significative entre les lagunes (ANOVA, F=3.646, P=0.003).

9 -Sélénium (Se²⁻) mg.kg⁻¹MS

Le sélénium est aussi l'élément le moins détecté dans les échantillons de sédiments prélevés dans les quatre lagunes. La concentration maximale (7.9 mg.kg⁻¹MS) a été enregistrée dans la lagune 3 en avril 2015. Une légère augmentation de la concentration en Se²⁻ dans les lagunes 2, 3 et 4 a été observée au cours du temps alors qu'elle n'a pas changé dans la lagune 1 (<2,5 mg.kg⁻¹MS). La concentration de Se²⁻ a varié de façon significative entre les lagunes (ANOVA, F=5.367, P=0.0001).

10 -Zinc (Zn²⁺) g.kg⁻¹MS

Les variations de concentration en zinc sont présentées sur la Figure 4.14. Il y a eu une augmentation de la concentration en Zn^{2+} dans tous les échantillons prélevés au cours du mois d'avril 2014, suivie d'une diminution dans le mois d'octobre de la même année, puis on observe une nouvelle augmentation pendant la période d'échantillonnage d'avril 2016. Les lagunes 1 et 2 ont présenté les plus fortes variations de concentration en zinc avec respectivement 0.254 - 1450 g.kg⁻¹MS et 0.449 - 565 g.kg⁻¹MS. Dans les lagunes 3 et 4, les concentrations variaient respectivement entre 0.382 et 499 g.kg⁻¹MS et 0.21 et 471 g.kg⁻¹MS. La concentration en Zn²⁺ a varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=10.307, P=2.351).



Figure 4.8: variations spatiotemporelles des concentrations en aluminium (exprimées en g kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.



Figure 4.9: variations spatiotemporelles des concentrations en arsenic (exprimées en mg kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.



Figure 4.10: variations spatiotemporelles des concentrations en cadmium (exprimées en mg kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.



Figure 4.11: variations spatiotemporelles des concentrations en chrome (exprimées en mg kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.



Figure 4.12: variations spatiotemporelles des concentrations en cuivre (exprimées en mg kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.



Figure 4.13: variations spatiotemporelles des concentrations en nickel (exprimées en mg kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.



Figure 4.14: variations spatiotemporelles des concentrations en zinc (exprimées en g kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiments de quatre lagunes.

11 -Le manganèse (Mn²⁺) g.kg⁻¹MS

La concentration en Mn^{2+} a augmenté dans tous les échantillons prélevés au cours du mois d'avril 2014 (Tableau 4.2), a diminué au mois d'octobre de la même année, puis augmenté à nouveau en avril 2015. Au mois d'avril 2015, nous avons enregistré des concentrations élevées en magnésium dans les lagunes 1 (4150 g.kg⁻¹), 2 (13900 g.kg⁻¹), 3 (13600 g.kg⁻¹) et 4 (4670 g.kg⁻¹). La concentration en Mn ²⁺ a varié entre les lagunes mais cette variation n'est pas statistiquement significative (ANOVA, F=0.429, P=0.895).

12 -Le fer (Fe^{2+}) g.kg⁻¹MS

Le fer est l'élément le plus abondant dans les échantillons de sédiments. Les concentrations les plus élevées ont été enregistrées dans la lagune 1 avec un maximum de 337 g.kg⁻¹MS en octobre 2015. Les concentrations les plus faibles étaient enregistrées dans la lagune 4 avec des valeurs comprises entre 32.3 et 46.9 g.kg⁻¹MS (Figure 4.15). La concentration en Fer a diminué au niveau des lagunes 3 et 4 en avril 2016. Elle a varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=48.914, P=4.736).

13 – L'étain (Sn²⁺) mg.kg⁻¹MS

La concentration en étain était élevée dans la lagune 1 durant toute la période d'échantillonnage et diminuait progressivement de la lagune 1 à la lagune 4. La valeur la plus élevée (219 mg.kg⁻¹MS) a été observée dans la lagune 1 en avril 2016, et la plus faible (6.3 mg.kg⁻¹MS) dans la lagune 4 en octobre 2014 (Figure 4.16). La concentration en Sn²⁺ a varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=11.694, P=5.193).

14 -Bore (B^{3+}) mg.kg⁻¹MS

La concentration en B^{3+} était élevée dans toutes les lagunes en avril 2016. Les concentrations en bore dans les lagunes 1, 2, 3 et 4 ont varié respectivement entre 9.4 et 34,6 mg.kg⁻¹ MS, 11.6 et 26.1 mg.kg⁻¹ MS, 12.2 et 21.7 mg.kg⁻¹ MS et 15.4 et 29.9 mg.kg⁻¹ MS (Figure 4.17). La concentration en B^{3+} a varié de façon significative entre les lagunes (ANOVA, F=4.203, P=0.001).

15 - L'argent (Ag⁺) mg.kg⁻¹ MS

La concentration la plus élevée en argent était de (7,84 mg.kg⁻¹ MS) dans la lagune 1 en avril 2014, tandis que les concentrations étaient stables et moins élevées dans toutes les lagunes pendant toutes les périodes d'échantillonnages (Tableau 4.2). La concentration en Ag^+ a varié de façon significative entre les lagunes (ANOVA, F=2.982, P=0.015). (Tableau 4.2)

16 -Phosphore (P⁻) g.kg⁻¹ MS

La variation spatiale des concentrations en phosphore est similaire au cours de la période d'échantillonnage avec des valeurs élevées dans les lagunes 3 et 4 de (810 g.kg⁻¹ MS) et (856 g.kg⁻¹ MS) respectivement en avril 2014. La lagune 1 a enregistré les plus fortes concentrations en phosphore avec des valeurs de (11.6 g.kg⁻¹ MS) en octobre 2013, (12.7 g.kg⁻¹ MS) en octobre 2014, (12 g.kg⁻¹ MS) en avril 2015, (12.6 g.kg⁻¹ MS) en octobre 2015 et (19.6 g.kg⁻¹ MS) en avril 2016. La concentration en phosphore augmente très fortement en avril 2016 dans les lagunes 2, 3 et 4 avec des valeurs de (862 g.kg⁻¹ MS), (714 g.kg⁻¹ MS) et (650 g.kg⁻¹ MS) respectivement (tableau 4.2). La concentration en P⁻ a varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=0.925, P=0.507).

17 - Plomb (Pb²⁺) mg.kg⁻¹ MS

L'étude de la concentration en plomb dans les échantillons de sédiment a montré une diminution graduelle de la lagune 1 à la lagune 4 (Figure 4.18) et aussi une augmentation dans tous les sites d'échantillonnage durant le mois d'avril 2015. Les valeurs de la concentration en plomb dans les échantillons de sédiment variaient entre 21.2 et 174 mg.kg⁻¹ MS dans lagune 1, 41.8 et 87.6 mg.kg⁻¹ MS dans lagune 2, 51.4 et 86,5 mg.kg⁻¹ MS dans la lagune 3 et 28.8 et 85 mg.kg⁻¹ MS dans la dernière lagune. La concentration en Pb²⁺ a varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=7.214, P=1.208).



Figure 4.15: variations spatiotemporelles des concentrations en fer (exprimées en g kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.



Figure 4.16: variations spatiotemporelles des concentrations en étain (exprimées en mg kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiments des quatre lagunes.



Figure 4.17: variations spatiotemporelles des concentrations en bore (exprimées en mg kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.



Figure 4.18: variations spatiotemporelles des concentrations en plomb (exprimées en mg kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.

18 - Les chlorures (Cl⁻), les fluorures (F⁻), et les sulfates (SO₄²⁻) mg.kg⁻¹ MS

La Figure 4.19 montre que en avril 2014, les plus fortes concentrations en ion chlorure étaient enregistrées dans la lagune 1 amont (216 mg.kg⁻¹ MS) dans la lagune 3 aval (113 mg.kg⁻¹ MS), alors que ce même mois, les concentrations les plus faibles concentrations étaient de 10,9 mg.kg⁻¹ MS dans la lagune 3 amont et < 10 mg.kg⁻¹ MS dans la lagune 4 aval. La concentration en ions chlorures a fortement augmenté en avril 2016 pour tous les points d'échantillonnage. Dans les lagunes 1, 2, 3 et 4, les valeurs étaient comprises respectivement entre 290 et 390 mg.kg⁻¹ MS, 320 - 360 mg.kg⁻¹ MS, 220 et 430 mg.kg⁻¹ MS et 470 mg.kg⁻¹ MS. La concentration en Cl⁻ a varié de façon statiquement non significative entre les lagunes (ANOVA, F=0.365, P=0.931).

La concentration en sulfates a été la plus élevée au mois d'octobre 2013 pour tous les sites d'échantillonnage, avec une valeur de 2800 mg.kg⁻¹MS pour la lagune 1. Les concentrations ont ensuite diminué au cours de la deuxième campagne de prélèvement en avril 2014 avec des valeurs comprises entre 95.5 et 287 mg.kg⁻¹ MS dans le lagune 1, 217 et 306 mg.kg⁻¹ MS dans la lagune 2, 264 et 526 mg.kg⁻¹ MS dans la lagune 3 et 23 et 495 mg.kg⁻¹ MS dans la lagune 4. Au mois d'avril 2015 les concentrations en sulfates ont diminué dans les lagunes 1 et 2 alors qu'elles ont augmenté dans les autres lagunes. Dans les lagunes 2, 3 et 4 la concentration en sulfates a diminué en avril 2016 (Figure 4.20). La concentration de SO₄ ²⁻ varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=0.945, P=0.492).

19 - Les nitrates (NO₃⁻) et les nitrites (NO₂⁻) mg.kg⁻¹ MS

Les concentrations en nitrates les plus élevées (190 mg.kg-1 MS) ont été enregistrées dans la première lagune au cours mois d'octobre 2013, et sont restées élevées dans toutes les lagunes au cours du mois d'avril 2014. La concentration en nitrates était <10 mg.kg⁻¹ MS en avril 2016 pour tous les points d'échantillonnage. La concentration en NO₃⁻ a varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=1.202, P=0.320). La plus forte concentration en nitrites a été de (190 mg.kg⁻¹ MS) dans la lagune 1 durant la première campagne de prélèvement des échantillons, et a atteint (80,5 mg.kg⁻¹ MS) dans la lagune 2 en avril 2014. Il y a eu également une diminution des concentrations en nitrites au mois d'octobre 2015 pour tous les sites d'échantillonnage pour augmenter en avril 2016 dans toutes les lagunes. La concentration en NO₂⁻ a varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=1.247, P=0.301) (Table 4.2).



Figure 4.19: variations spatio-temporelles des concentrations en chlorures (exprimées en mg kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.



Figure 4.20: variations spatio-temporelles des concentrations en sulfates (exprimées en mg kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.

Tableau 4.2: teneurs en ETMs des différents échantillons de sédiment dans les lagunes du site de la
décharge d'Étueffont entre octobre 2013 et avril 2016, (moyenne \pm écart-type) exprimés en mg kg ⁻¹
MS et g kg ⁻¹ MS pour P, Al et Zn .

	L1	L1	L1	L2	L2	L3	L3	L4	L4		
	Amont	Milieu	Aval	Amont	Aval	Amont	Aval	Amont	Aval		
Mn	965.388	1297.437	1056.062	3417.240	2153.438	3275.343	2186.102	2217.753	1266.872		
	±	±	±	±	±	±	±	±	±		
	1491.455	2011.313	1630.146	5769.599	3660.978±	5600.597	3398.718	2971.963	2034.972		
Ag	4.220	4.968	3.580	4.000	4.380	4.000	4.180	4.460	4.060		
	±	±	±	±	±	±	±	±	±		
	0.303	1.616	1.064	0.000	0.164	0.000	0.084	0.207	0.089		
Р	13.450	3.875	1.111	113.937	145.323	254.513	224.957	251.417	80.559		
	\pm 2.040	±	\pm 0.207	±	± 251 100	\pm 204 268	±	\pm 202.048	± 106.176		
-	5.040	1.032	0.397	273.844	4 567	394.208	5 347.462	393.948 8 200	190.170		
F	+	4.807	5.450 +	5.450 +	4.307	4.127	5.542	8.200	+.085		
	6.886	5.989	7.028	7.028	5.996	5.692	6.745	12.054	5.579		
NOa	26.000	62.850	7.233	8.500	9.667	8.500	9.333	9.333	10.667		
1103	±	±	±	±	±	±	±	±	±		
	20.347	83.957	3.151	2.811	3.559	2.950	3.830	1.966	1.966		
NO ₂	28.917	47.915	182.948	24.267	16.783	14.165	16.833	16.915	20.088		
_	±	±	±	±	±	±	±	±	±		
	16.873	70.700	359.952	29.414	13.626	10.178	13.884	12.455	16.680		
AI	3.255	7.815	22.783	18.150	17.933	19.533	21.400	23.700	18.867		
	± 0.702	±	±	±	±	±	\pm 2.241	\pm 2.245	±		
-	0.795	5.778	4.120	5.844	4.148	4.080	2.241	3.245	10.055		
As	550.555 +	12.250	97.383	90.330	39.707	50.100	51.585	50.200	22.117		
	$\frac{1}{180.059}$	$\frac{-}{16123}$	41 254	$\frac{-}{51}$ 170	$\frac{1}{6812}$	$\frac{-}{4}$ 864	4 461	$\frac{1}{12,823}$	$\frac{1}{12,247}$		
Cd	3.767+	1.133+	1.300+	1.900	1.633	1.700	1.450+	1.567	1.233		
Cu	0.814	0.413	0.555	±	±	±	0.404	±	±		
				0.681	0.750	0.663		0.804	0.804		
Cr	169.167	86.883	95.767	74.967	63.350	63.583	67.400	68.750	49.817		
	±	±	±	±	±	±	±	±	±		
	46.383	31.327	27.818	20.854	14.525	11.443	8.340	21.134	27.561		
Cu	82.583	72.133	118.600	174.600	176.767	180.333	188.500	178.133	135.583		
	±	±	\pm 24 402	±	\pm 61.080	\pm 40.022	±	± 76.257	± 01505		
A1*	32.312 24.822	25.470	24.403	37.303	01.980	40.932	23.330	10.557	04.303		
INI	+	25.200	+	-	+	+	42.005	+	52.455 +		
	2.652	$\frac{-}{11.860}$	9.995	7.272	9.182	6.393	3.657	9.530			
Zn	843.177	426.937	412.167	453.742	463.000	375.230	323.238	291.757	251.702		
211	±	±	±	±	±	±	±	±	±		
	484.303	232.969	49.191	235.719	126.581	200.597	163.471	194.742	207.438		
Pb	47.833	44.017	148.000	95.383	86.650	80.583	65.483	64.817	53.467		
	±	±	±	±	±	±	±	±	±		
	12.558	25.077	23.126	32.559	36.882	19.605	7.691	19.880	28.626		

20 - Carbone organique total (COT) g.kg⁻¹ MS

Les concentrations en carbone organique total présentaient des valeurs comprises entre 68 et 126 g.kg⁻¹ MS dans lagune 1, 67.5 et 137 g.kg⁻¹ MS dans la lagune 2, 32.9 et 89.6 g.kg⁻¹ MS dans la lagune 3 et 52.6 et 103 g.kg⁻¹ MS dans la lagune 4. En avril 2015 y a eu une

diminution (de 126 à 103 g.kg⁻¹ MS) de la concentration en COT et la valeur la plus élevée (137 g.kg⁻¹ MS) était enregistrée dans la lagune 2 amont. La plus faible valeur (32,9 g.kg⁻¹ MS) a été observée en octobre 2013 dans la lagune 3 amont. La concentration en COT a fortement augmenté en octobre 2015 dans les lagunes 2, 3 et 4 puis a diminué en avril 2016 (figure 4.21). La concentration en COT a varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=0.679, P=0.706).

21 - Les bicarbonates (HCO₃⁻) mg.kg⁻¹ MS

Les résultats obtenus sont illustrés dans la (Figure 4.22). La concentration en bicarbonates avait tendance à diminuer dans la première lagune de l'amont vers l'aval. La plus forte concentration enregistrée (2772 mg.kg⁻¹ MS) a été observée dans la lagune 1 amont en avril 2015 et la valeur la plus faible (526 mg.kg⁻¹ MS) dans la lagune 3 aval en avril 2016. Les lagunes 2 et 3 ont également enregistré une diminution de la concentration en bicarbonate pendant le mois d'avril 2015, alors qu'il y a eu augmentation dans la dernière lagune pendant la même période. De façon générale la concentration en bicarbonates a diminué dans toutes les lagunes (ANOVA, F=8.024, P=3.808).

22 -L'azote ammoniacal et l'azote Kjeldahl mg.kg⁻¹ MS

La concentration en azote ammoniacal a diminué au cours de la deuxième campagne de prélèvement des échantillons en avril 2014 dans tous les sites d'études (Figure 4.23). Les concentrations ont augmenté au cours du mois d'octobre de la même année, pour diminuer à nouveau en octobre 2015 puis augmenter en avril 2016. La concentration en Azote ammoniacal a varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=1.234, P=0.307).

La plus forte concentration en azote ammoniacal (194 mg.kg⁻¹MS) a été enregistré dans la lagune 1 aval en octobre 2015, tandis que la valeur la plus faible était <1 mg.kg⁻¹ MS dans la lagune 4 en octobre 2013.

Une exceptionnellement forte concentration (22300 mg.kg⁻¹ MS) dans la lagune 1 est observée en octobre 2015, environ 15 fois le niveau de base (Figure 4.24) Les concentrations ont ensuite diminué dans l'ensemble des autres lagunes en octobre 2015. La concentration la

plus élevée en azote Kjeldahl a été enregistrée en octobre 2015 dans les lagunes 1, 2, 3 et 4 (Figure 4.24). La concentration en azote kjeldhal a varié de façon non significative entre les lagunes (ANOVA, F=1.164, P=0.346).



Figure 4.21: variations spatiotemporelles des concentrations en carbone organique total (exprimées en g kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.



Figure 4.22: variations spatiotemporelles des concentrations en bicarbonates (exprimées en mg kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.



Figure 4.23: variations spatiotemporelles des concentrations en azote ammoniacale (exprimées en mg kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.



Figure 4.24: variations spatiotemporelles des concentrations en azote Kjeldahl (exprimées en mg kg⁻¹ MS) dans les différents échantillons de sédiment des quatre lagunes.

4.4 Discussion

La surveillance des teneurs en métaux lourds est normalement effectuée par la mesure de la concentration en métaux dans l'eau et les sédiments dans le système aquatique. La concentration est normalement plus faible dans l'eau, mais augmente dans les sédiments du système aquatique.

L'augmentation des concentrations de certains ETMs (Cd, Cu, Ni et Zn) dans la deuxième et la troisième lagune par rapport à la première lagune, recevant l'effluent brut du lixiviat, peut être expliquée par le fait que ces deux lagunes ont une surface plus grande soit 1934 m² pour la lagune 2 et 1848 m² pour la lagune 3. Il faut également considérer le temps de séjour des lixiviats dans les lagunes qui est 6 fois plus long au niveau de ces deux lagunes qu'au niveau de la lagune 1 où il n'est que de 5 jours seulement (**Khattabi, 2002**).

En général, la mobilisation des éléments dans le sédiment dépend des changements physicochimiques de l'eau à l'interface sédiment-eau. La précipitation d'éléments métalliques lourds sous la forme d'hydroxydes, d'oxydes et de carbonates insolubles peut être le résultat d'un pH alcalin. Des facteurs tels que le climat et l'hydrologie, la chimie de l'eau et l'activité biologique contrôler le dépôt et la fixation des métaux lourds dans les sédiments des lagunes.

Les concentrations d'arsenic dans les sédiments sont souvent élevées lorsque les niveaux de fer sont élevés et l'association avec la matière organique pour l'arsenic semble avoir moins d'importance par rapport à d'autres métaux. L'arsenic a tendance à être fortement adsorbé sur les sédiments en relation avec les conditions anoxiques / toxiques de l'environnement (**Fergusson1990**).

Dans la présente étude le cadmium est l'élément le moins accumulé dans le sédiment où sa concentration ne dépassait pas 4.3 mg.kg⁻¹. En aérobie, le cadmium peut être adsorbé ou coprécipité avec des oxydes, hydroxydes et oxydes hydratés de Fe, Mn et Al. Ceci peut expliquer les maxima de concentration trouvés au niveau de la lagune 3, du fait de l'augmentation d'adsorption du cadmium aux -(oxy-) hydroxydes de Fe, Mn et Al, favorisée par les conditions aérobie. De ce fait, on peut dire que l'augmentation des concentrations du Pb au niveau des lagunes peut être due à ce qu'elle est végétalisée et que les circonstances environnantes aident cet élément à être accumulé dans les sédiments après qu'il ait été piégé dans les racines des macrophytes qui envahissent le contour et le milieu de cette lagune. D'autre part, dans des conditions oxiques ou suboxiques, le Ni s'adsorbe sur les oxydes de Mn (**Green-Pedersen et al., 1997; Tonkin et al., 2004**).

Les concentrations en bore étaient dans la gamme 9.4-34,6 mg.kg⁻¹, ce qui peut s'expliquer par la forte adsorption du bore sur les différents types d'argile qui couvrent le fond des lagunes, (**Sims et Bingham, 1967; Keren et Mezuman, 1981; Keren et Gast, 1983; Palmer et al., 1987**). Par ailleurs, l'étude de **Palmer et al., (1987**) a montré que l'adsorption du bore sur les argiles s'accompagne d'un fractionnement isotopique dépendant du pH. Ces résultats peuvent provenir de l'adsorption du bore sur les autres composants des sols, comme les oxydes métalliques (**Sims et Bingham, 1968; McPhail et al., 1972; Goldberg et Glaubig, 1988; Su et Suarez, 1995; Peak et al., 2003**), ou la matière organique (**Lehto, 1995**), qui atteint son apogée dans la dernière lagune (**Khattabi, 2002**). Les effets directs de pH sont des phénomènes de (co) précipitation et/ou de dissolution de métaux trace et de minéraux (**Herreweghe et al., 2002**).

Les métaux lourds peuvent s'accumuler dans les eaux, les sédiments, les plantes et les organismes aquatiques des écosystèmes d'eau douce. Ainsi, en raison de leur toxicité, la contamination de ces écosystèmes par les métaux lourds est une préoccupation majeure pour toutes les formes de vie. La pollution par les métaux lourds est une menace pour la vie humaine et l'environnement global (**Igwe et Abia, 2006**). Les métaux lourds représentent une classe importante de polluants pour l'environnement aquatique. La surveillance des concentrations en métaux lourds dans les sédiments est importante pour les études toxicologiques dans les milieux aquatiques. En raison de leur durée de vie importante, les concentrations de métaux lourds dans les sédiments restent une source essentielle d'information concernant leurs sources, leur spéciation et le degré de contamination ou de pollution (**Adefemi et al., 2007; Madkour et al., 2012**).

La variation saisonnière des concentrations en zinc est demeurée faible au cours de la période de l'étude, ce qui suggère que les apports en zinc pourraient être des constantes, ou dépendre des caractéristiques géochimiques des bassins versants.

Les métaux lourds déchargés dans les systèmes aquatiques peuvent être immobilisés dans le flux de sédiments par les principaux processus d'adsorption comme la floculation et la coprécipitation. Par conséquent, les sédiments présents dans les milieux aquatiques servent de réservoir les retenant ou les libérerant dans la colonne d'eau par divers processus de remobilisation (Caccia et al., 2003; Pekey 2006; Marchand et al., 2006).

Les concentrations en Cu et Zn déterminées dans les sédiments de lixiviat de la décharge d'Etueffont étaient plus élevés que dans d'autres études (**Ettler et al., 2006 ; Silva Filho et al., 2006; Wojciechowska et al., 2011**) et dans la gamme supérieure des valeurs rapportées par Øygard et al., (2008). La répartition spatiale en Cu dans les sédiments diffère de celle observée pour le Zn, suggérant un comportement différent lors de la migration et la sédimentation.

Généralement, la concentration en métaux dans les échantillons d'eau était très faible par rapport à celle enregistrée dans des échantillons de sédiments. Cette différence était encore plus prononcée dans les échantillons d'eau de la saison des pluies où presque tous les métaux étaient sous la limite de détection, résultant vraisemblablement de la dilution de la lagune par l'eau de pluie. Les métaux proviennent également des sédiments de la lagune qu'ils agrègent pour former de grandes particules denses (**Adomako et al., 2008**).

La concentration en zinc était dans la gamme 0,21 - 1,450 g.kg⁻¹. En petite quantité, le Zn est un élément essentiel pour la vie terrestre, étant une composante structurelle de certains systèmes enzymatiques (**Muniz et al., 2003**). Les valeurs de concentration en Zn obtenues dans cette étude sont très similaires à celles observées dans la baie de Guanabara, où des concentrations élevées associées aux rejets des effluents domestiques et industriels sont responsables de la pollution de l'environnement dans ce milieu estuarien (**Baptista Neto et al., 2000, Machado et al., 2001**).

Généralement le contenu en matière organique des sédiments augmente lorsque la texture des sédiments s'affine (Williamson et Wilcock, 1994; Denton et al., 2001). La présence de matière organique peut potentiellement augmenter les concentrations en métaux dans les sédiments par adsorption de ces derniers à partir de matériaux organique présent dans le milieu environnant (Loomb, 2001). De même, les organismes morts dans des sédiments peuvent transporter les métaux lourds avec eux, soit stockés au niveau de l'organisme de son vivant, soit adsorbés sur l'animal avant ou après sa mort (Fergusson, 1990) et ceci contribue directement aux concentrations en métaux trouvés dans les sédiments. Les composés organiques contenant des ions métalliques peuvent aussi être sorbes sur les oxydes de Fe ou de Mn.

La matière organique peut affecter la solubilisation par complexation des ions métalliques de différents métaux, mais elle peut aussi prendre des ions métalliques à la solution et contribuer à générer des sédiments. La décomposition de la matière organique produit des ligands organiques qui peuvent extraire des métaux des sédiments et augmenter leur concentration dans l'eau (**Fergusson, 1990; Taulis 2005**).

Près des sites d'enfouissement, les conditions sont généralement plus anaérobies où les métaux sont présents sous formes réduites [si des microbes y sont présents, ils peuvent utiliser des métaux comme accepteur d'électron terminal capable également de réduire les métaux / métalloïdes]. Ainsi les formes de métaux réduits sont généralement plus mobiles.

Loin des sites d'enfouissement, les conditions sont plus aérobie (oxique) et des métaux / métalloïdes présents sous forme oxydée sont susceptibles d'être séquestrés par des oxydes de Fer.

Les concentrations en métaux lourds obtenus à partir des échantillons de sédiments prélevés dans la lagune 4 ont également été comparées aux valeurs de référence qualité (**Environmental Protection Agency, 2002**) Sédiments EPA. Selon les lignes directrices, les sédiments sont définis comme non-pollués pour le Cd, le Pb, (le Zn et le Mn en octobre 2013) et modérément pollués pour le Cr et le Ni (**Samecka-Cymerman et Kempers, 2001**). En outre, la concentration moyenne en Cu, Mn, Pb et Zn est au-dessus des valeurs de référence données par l'EPA pour les sédiments, et donc classée comme indiquant une forte concentration. Les concentrations en métaux lourds ont également été comparées avec celle del'étude de **Ben Salem et al. (2014**) qui a trouvé des résultats similaires.

La diminution de la concentration en NO_3^- avec une élévation des niveaux de NO_2^- , a été suivie par une augmentation substantielle de la concentration en NH_4^+ quand la concentration en NO_3^- était minime. Ces observations suggèrent que l'accumulation du NO_2^- entraîne une inhibition du système DNRA réductase bactérienne NO_2^- versus NO_3^- .

Les bactéries nitrifiantes chimiotrophes sont considérées comme étant strictement aérobies et exigent de l' O_2 pour l'oxydation du NH_4^+ et du NO_2^- . Par conséquent, la croissance des nitrifiants est limitée aux couches de sédiment oxiques et les limites de la diffusion à la baisse d'oxygène affecte directement les populations microbiennes, en modifiant et en limitant la nitrification-dénitrification couplée. (voir par exemple **Lorenzen et al., 1998**).

Les résultats de l'étude ont montré que les métaux lourds sont fortement concentrés dans les sédiments. En outre, des niveaux élevés de la conductivité, TDS, Cl⁻, de la dureté totale et le manque de concentration de l'oxygène ont été observés au cours de l'étude. **Zabetoglou et al.,** (2002) ont observé que la concentration en métaux lourds dans les sédiments dépasse généralement celle trouvée dans l'eau par un facteur de l'ordre de 3 à 5.

Ces résultats concordent avec ceux rapportés par (**Abdo**, **2004**). Cependant, les valeurs de concentration en métaux plus faibles pendant les saisons froides peuvent être dues à la mobilisation de ces métaux à partir des sédiments recouvrant l'eau en raison des faibles valeurs de pH et de l'activité microbienne (**Elewa et Goher**, **1999**). D'un autre côté, l'augmentation relative des concentrations en plomb et en cadmium en hiver peut être liée à la décomposition du plancton et les précipitations de la matière organique associée au plomb et au cadmium pour les sédiments. Ces résultats sont en accord avec l'étude de (**Goher**, **1998**).

Le sodium, le potassium, le calcium et le magnésium représentent les principaux cations dans l'eau naturelle et les sédiments (**Wetzel, 1983**), et sont considérés comme nécessaires non seulement pour la croissance du phytoplancton mais également pour les animaux aquatiques (**Conley, 2000**). Les teneurs en Ca²⁺ et Mg²⁺ dans les sédiments des lagunes étaient élevés en octobre.

En général, l'augmentation ou la diminution des cations majeurs (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ et K^+) est dépendante de la nature de l'échantillon de sédiment, de la saison de collecte et des conditions climatiques.

La matière organique totale présente dans les sédiments joue un rôle important dans l'accumulation et la libération de polluants dans l'eau, et représente une source de nutriments pour la faune vivant dans la lagune.

Conclusion

Le suivi de accumulation en ETMs au niveau du sédiment des quatre lagunes du site de la décharge d'Étueffont, a permis de mettre en évidence l'importance des deux filtres de graviers installés au niveau de la première lagune pour le piégeage de ces éléments. Cela se traduit par une diminution considérable des teneurs en ETMs en passant de la première à la deuxième lagune et une diminution remarquable des teneurs en ETMs en allant de l'amont à l'aval du système, ceci pendant toute la période d'échantillonnage (octobre 2013 - avril 2016).

La distribution spatiale met en évidence une diminution globale des concentrations des différents éléments métalliques au niveau de la quatrième lagune par rapport aux lagunes précédentes, ce qui prouve l'efficacité du système dans la rétention des particules. Il y a une diminution des concentrations en ETMs dans les sédiments avec l'augmentation de la distance par rapport au point d'entrée de l'effluent dans le système de traitement des eaux usées municipales. Pour As, Sn et Fe, la diminution entre la première et la deuxième lagune est remarquable. Ces diminutions brusques peuvent être expliquées par le rôle des deux filtres en graviers installés au niveau de la première lagune, qui participent au piégeage de certains éléments dont les éléments métalliques.

La phytoremédiation est considérée comme une technologie peu coûteuse, très efficace, respectueuse de l'environnement dans laquelle les capacités des plantes, à absorber et accumuler des polluants tels que les ETMs sont exploitées à des fins d'assainissement de l'environnement.

Concernant les boues, les teneurs observées sont comparées, quand elles existent, aux valeurs seuils de l'Arrêté du 8 janvier 1998 fixant les prescriptions techniques applicables aux épandages de boues sur les sols agricoles pris en application du décret n° 97-1133 du 8 décembre 1997 relatif à l'épandage des boues issues du traitement des eaux usées, et de l'arrêté.

Concernant l'arrêté du 28 octobre 2010 relatif aux installations de stockage de déchets inertes. Sur les paramètres analysés, les teneurs sont largement inférieures aux valeurs seuil, lorsqu'elles existent. Les boues sont peu chargées en éléments traces métalliques notamment. Nous pouvons constater qu'il y a une diminution de la quantité de matière sèche dans toutes les Lagunes.

Chapitre 5

Impact du panache de lixiviats sur la qualité de l'eau souterraine

5.1 Introduction

Décharges représentent une menace généralisée et significative à la qualité des eaux souterraines, la santé d'humaine et même certains des écosystèmes en raison de leur nature de l'opération et de l'abondance. (**Bagchi, 1994**).

Les décharges sont potentiellement dangereuses pour l'environnement, avec le risque d'impacts négatifs sur la qualité de l'air, de l'eau et du sol. Les sites d'enfouissement sont des sources anthropiques potentielles de pollution des eaux souterraines et de surface. Certains déchets, qui ne sont pas correctement traités, peuvent être lessivés, les sous-produits issus de la percolation peuvent s'infiltrer et entraîner une pollution de l'eau, (en particulier des eaux souterraines). L'eau souterraine peut également être polluée quand elle migre horizontalement à travers les déchets dans les décharges.

Selon **Al Sabhai et al.**, (2009), le principal problème associé à des sites d'enfouissement est la formation de lixiviats et la contamination éventuelle des eaux souterraines et du sol en raison de la migration des contaminants. L'écoulement et l'infiltration de lixiviats sont la source la plus critique de la contamination des eaux souterraines à proximité des décharges existantes dans l'État du Lagos, au Nigeria (**Longe & Enekwechi, 2007**). Les eaux souterraines contaminées peuvent affecter la qualité des eaux de surface par des interactions dans le cycle hydrologique. Les eaux souterraines et les eaux de surface sont reliées par leur zone de transition dans un continuum hydrologique et la contamination de l'un affecte généralement l'autre (**EPA, 2008**).

Comprendre le transport et le devenir des contaminants dans cette zone est donc important pour l'évaluation des risques et la surveillance de la qualité de l'eau (**EPA**, **2008**). Le sol dans lequel circule de l'eau contaminée peut être pollué par absorption des contaminants présents dans l'eau souterraine. L'impact des décharges sur la qualité des eaux souterraines dépend de divers facteurs, comme la composition des déchets, leur degré de compactage, la quantité de lixiviat, et le climat, qui dicte la tendance des précipitations qui prévaut dans la région de décharge. L'impact est également dépendant du gradient hydraulique ou du système d'écoulement, la géologie du sous-matériel (**Akoteyon**, **2012**) et la composition du sol. D'autres facteurs importants qui influent sur le devenir et le transport des contaminants des eaux souterraines comprennent la solubilité des contaminants et la chimie de l'eau souterraine, y compris le pH. La surveillance des eaux souterraines est un aspect important pour une gestion durable des décharges. Elle fournit des données sur la qualité de l'eau qui peut être utilisée soit pour répondre aux directives d'évacuation du lixiviat ou sur le suivi d'objectifs d'assainissement. La pollution des eaux souterraines peut être détectée relativement tôt. L'évaluation des risques potentiels pour l'homme et l'environnement est ainsi facilitée lorsque la surveillance des eaux souterraines est incluse dans les plans de gestion environnementale des décharges.

5.2 Matériels et méthodes

5.2.1 Stratégie d'échantillonnage

Six campagnes ont été réalisées entre octobre 2013 et avril 2016 selon un pas de temps semestriel (Figure 5.1).



Figure 5.1: chronologie des différentes campagnes de prélèvement des sédiments.

5.2.2 Définition du programme de suivi post-exploitation

Selon les prescriptions de l'arrêté préfectoral complémentaire n° 1416 du 10 août 1998, l'eau souterraine et l'eau de surface doivent être contrôlées au minimum jusqu'au 31 décembre 2031. L'arrêté complémentaire du 11 mai 2016. Compte tenu des résultats obtenus pourra permettre l'arrêt des contrôles 10 ans avant soit 2021. Si les résultats ne sont pas favorables, l'arrêt du suivi sera poursuivi comme prévu initialement.

5.2.3 Points d'échantillonnage initiaux

5.2.3.1 Eau souterraine

Les piézomètres concernés étaient PZ2, PZ3, PZ4, PZ6, PZ7, PZ8, PZ9, PZ30, PZ40, PZ70, PZ80, PZ90, PZ100, PZ110 et PZ50 (Nouveau, installé récemment en 2014, remplace le PZ5 amont qui se trouve maintenant dans l'enceinte de la zone de stockage de déchets inertes exploité par les Carrière de l'Est).

5.2.3.2 Points d'échantillonnage complémentaires

Depuis l'établissement de l'arrête complémentaire, en 1998, le réseau piézométrique du site a évolué et compte à l'heure actuelle 17 piézomètres. Certains piézomètres ne sont plus fonctionnels soit en raison d'un colmatage naturel partiel (PZ21, PZ22) (**Belle, 2008**) soit en raison de leur destruction pendant la première phase de réhabilitation en 1999 (PZ1 et PZ10). En 2007, le réseau a été complété par huit nouveaux piézomètres (PZ7, PZ70, PZ8, PZ80, PZ9, PZ90, PZ100, PZ110). Ces points supplémentaires ont été suivis en parallèle du programme « imposé », défini précédemment. À ceux-ci s'ajoutent deux points supplémentaires dans le ruisseau GP, le premier se situe à 10 m du rejet des lixiviats traités (GP amont) et le second en aval de la confluence des deux ruisseaux (aval MB/GP). Ont été également ajoutés, deux points de rejet des effluents liquides dans le ruisseau GP non intégrés initialement au programme alors que leur suivi est imposé par la réglementation. Les effluents liquides correspondent aux lixiviats traités par lagunage naturel et aux eaux de drainage récupérées sous le nouveau casier. Les lixiviats bruts ne sont pas rejetés directement dans le milieu naturel. Le réseau de surveillance « amélioré » est présenté dans les (Figures 5.2 et 5.3).



Figure 5.2 : implantation sur image *Google Earth* et orthophotographie drone des prélèvements d'eau dans les piézomètres.



Figure 5.3 : implantation sur image satellite *Google Earth* et orthophotographie drone des prélèvements d'eau dans les piézomètres.

5.2.4 Programme analytique

Chaque prélèvement d'eau souterraine dans les piézomètres a été précédé d'un relevé du niveau piézométrique à l'aide d'une sonde sonore et lumineuse.

Les paramètres analysés dans le cadre du suivi sont ceux figurant dans l'annexe III de l'arrêté du 9 septembre 1997 modifié, auxquels s'ajoutent les colibacilles et les salmonelles, soit :

- Matières en suspension totales (MEST),
- Carbone organique total (COT),
- Demande chimique en oxygène (DCO),

- Demande biologique en oxygène (DBO5),
- Azote total,
- Phosphore total,
- Phénols,
- Métaux totaux*,
- Fluorures et composés (en F),
- Cyanures libres,
- Indix Hydrocarbonates Total (HCT) C10-C40
- -Nitrate et nitrite

*Les métaux totaux sont la somme des éléments suivants (Pb, Cu, Cr, Ni, Zn, Cd, Hg et As).

5.3 Résultats

- 5.3.1 Étude des paramètres physique (Tableau 5.1)
- 1 Température (C°)

Les valeurs de température dans les piézomètres durant les périodes de prélèvement des échantillons étaient relativement stables et se situaient dans la gamme 8.3 - 14,1 °C (Tableau 5.1). La température la plus élevée a été enregistrée dans PZ50 (14.1 C°) en octobre 2014, et la plus basse (8.3 C°) dans PZ2 en avril 2016.

2 - pH

Pour PZ2, les valeurs de pH étaient relativement basses durant les trois premières campagnes d'échantillonnage, avec respectivement les valeurs de 6.48 et 5.68 en avril 2015 et avril 2016. Les valeurs de pH enregistrées dans PZ 3 ont toujours été <7. Le pH était alcalin dans PZ50, PZ6, PZ8, PZ80 et PZ100 durant les deux premières campagnes de collecte des échantillons, puis les valeurs ont diminué vers un pH acide. Dans (PZ7, PZ9, PZ70 et PZ90), les valeurs de pH étaient <7 (6.39, 6.70, 6.20 et 6.90 respectivement) en Octobre 2014. Dans PZ4 et PZ30 le pH était <7 en octobre 2013 (6.48, 6.94) respectivement. Les valeurs augmentaient ensuite pour tous les échantillons. En avril 2016, elles sont>7 pour PZ2, PZ4, PZ50, PZ9, PZ30, PZ 40, PZ 70, PZ 80, PZ90, PZ100 et PZ 110.

3 -La conductivité (µs.cm⁻¹)

De faibles valeurs de conductivité (>100 μ s.cm⁻¹) sont observées dans PZ2 et PZ4 en octobre 2013, en avril et octobre 2014 et dans PZ40 en octobre 2013, avril 2014 et avril2016. Les piézomètres PZ3, PZ6, PZ7 et PZ90 présentaient tous une conductivité légèrement supérieure ($\approx 200 \ \mu$ s.cm⁻¹). PZ100 et PZ110 ont montré une très haute conductivité électrique de concentration (> 400 μ s.cm⁻¹) sauf en octobre 2015 où la conductivité avait diminué pour PZ100 (82 μ s.cm⁻¹). La valeur de conductivité dans PZ 30 variait entre 250 et 496 μ s.cm⁻¹, tandis que pour PZ 5, la gamme se situait entre 368 et 650 μ s.cm⁻¹. Dans PZ 9, les valeurs de conductivité les plus élevées étaient enregistrées en avril (504 μ s.cm⁻¹) et en octobre (604 μ s.cm⁻¹) à partir de 2014.

5.3.2 L'eau souterraine contaminée

1- Indix Hydrocarbonates Total (HCT) C10-C40 (mg.l⁻¹).

Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées dans PZ7 à $(0,85 \text{ mg.l}^{-1})$ en avril 2014 et $(0,29 \text{ mg.l}^{-1})$ dans PZ30 alors que dans PZ5 elle était de $(0,32 \text{ mg.l}^{-1})$ en octobre 2014.Les valeurs d'hydrocarbures, dans toutes les piézomètres étaient stables et faibles (<0,05 mg.l⁻¹), (Figure 5.4). La concentration de HCT a varié de façon non significative entre les piézomètres (ANOVA, F=1.141, P= 0.343).

2 - Index cyanures ($\mu g . l^{-1}$)

Les valeurs des concentrations en cyanures sont restées stables et faibles (<10 μ g .l⁻¹) durant toute la période d'échantillonnage (Figure 5.5). La concentration a varié de façon non significative entre les piézomètres (ANOVA, F=0.908, P= 0.0.554).

3 - Index phénols ($\mu g . l^{-1}$)

Les valeurs des concentrations en phénols, sont restées stables ($<25 \ \mu g \ J^{-1}$) en octobre 2013, avril 2014 et 2016. Une augmentation a ensuite été observée, pour tous les piézomètres, sauf pour PZ 7 dont la concentration en phénols est restée constante. En avril 2015, les valeurs de concentrations en phénols étaient respectivement de 117, 112, 126 et 210 $\mu g \ J^{-1}$ dans les piézomètres 8, 30,70 et 110. La concentration en phénols la plus élevé (210 $\mu g \ J^{-1}$) a été enregistrée dans PZ 110 en avril 2015(Figure 5.6). La concentration en phénols a varié de façon non significative entre les piézomètres (ANOVA, F=1.166, P= 0.324).



Figure 5.4 : variation saisonnière en indice HCT C10-C40 dans les différents piézomètres.

		Pz 2	Pz 3	Pz 4	Pz 50	Pz 6	Pz 7	Pz 8	Pz 9	Pz 30	Pz 40	Pz 70	Pz 80	Pz 90	Pz100	Pz110
Température	2013 Oct.	9.9	12.3	10.6	12.4	11.6	12.9	11.0	11.4	12.7	10.2	13.3	12.3	11.4	13.0	12.7
	2014 Avr.	10.1	11.3	10.6	11.4	11.4	11.8	10.7	10.1	10.5	10.3	12.3	10.9	9.6	12.2	10.6
	2014 Oct.	11.5	12.7	11.8	14.1	10.7	12.6	11.3	10.6	11.9	-	13.0	11.2	11.5	13.1	12.6
	2015 Avr.	11.3	11.8	11.2	11.8	11.4	-	11.9	9.8	11.3	-	12.7	12.1	10.1	12.1	13.6
	2015 Oct.	9.8	12.5	10.4	13.6	11.4	12.3	11.3	10.7	13.0	-	12.9	10.9	11.2	13.3	11.5
	2016 Avr.	8.3	10.7	10.0	10.4	10.2	12.1	10.9	9.7	9.7	8.6	10.8	10.5	9.3	10.7	9.0
рН	2013 Oct.	8.47	7.00	6.48	7.70	7.82	7.72	7.76	7.52	6.94	6.30	7.64	8.48	7.36	6.96	6.87
	2014 Avr.	8.5	8.56	8.13	7.41	7.77	8.76	7.5	8.16	8.24	7.88	9.00	7.64	8.16	7.93	7.91
	2014 Oct.	7.00	7.55	7.28	6.21	6.59	6.39	6.89	6.70	7.51	-	6.20	6.81	6.90	6.58	6.95
	2015 Avr.	6.84	8.25	7.68	6.17	6.85	7.00	6.40	7.16	8.07	-	7.27	6.28	7.00	6.98	7.70
	2015 Oct.	9.50	9.50	8.94	8.03	8.18	7.60	8.57	9.47	9.62	-	7.86	7.57	8.04	9.50	9.53
	2016 Avr.	5.68	7.73	6.01	5.79	7.54	7.48	6.61	6.78	6.26	5.43	6.57	6.32	6.82	6.52	6.33
Conductivité	2013 Oct.	33	270	40	368	256	276	169	218	250	42	166	38	253	464	210
	2014 Avr.	42	295	51	650	256	248	159	504	343	38	179	85	466	455	412
	2014 Oct.	67	243	56	283	245	226	187	604	317	-	167	302	386	486	403
	2015 Avr.	30	246	33	588	251	228	161	97	353	-	116	144	285	472	400
	2015 Oct.	169	241	134	648	240	294	104	69	266	-	182	383	408	82	439
	2016 Avr.	240	496	216	620	286	293	108	158	406	42	200	47	322	477	402

Tableau 5.1 : variations spatiotemporelles des températures (°C), pH et conductivité (μ s.cm⁻¹) dans les différents piézomètres.



Figure 5.5: variation saisonnière en indices cyanure dans les différents piézomètres.



Figure 5.6: variation saisonnière des indices phénol dans les différents piézomètres.

5.3.3 Paramètres chimiques dans les piézomètres

A- La demande chimique en oxygène DCO $(mg.l^{-1})$

Les valeurs en DCO dans tous les piézomètres variaient entre <2 - 14,6 mg.l⁻¹; des valeurs élevées comprises entre 5.2 et 14,6 mg.l⁻¹ ont été enregistrées pour PZ9 et PZ90. Pour PZ110, la plus haute concentration (5.1 mg.l⁻¹) a été enregistrée en octobre 2014, tandis que en avril 2014 les valeurs enregistrées pour PZ2, PZ5, PZ8, PZ30, PZ40 et PZ110 étaient respectivement de 3.80, 4.1, 12.8, 2,7, 3,8, 3,5 mg.l⁻¹. Les valeurs en DCO dans PZ3, PZ4, PZ70 et PZ80 étaient <2 mg.l⁻¹ pour l'ensemble des échantillons. Les valeurs en DCO augmentaient en avril 2016 dans les piézomètres 2, 7,9, 30, 80 et 100 et diminuaient dans les piézomètres 90 et 110 (Figure 5.7). La concentration en DCO a varié de façon non significative entre les piézomètres (ANOVA, F=11.688, P= 2.318).

B - La demande biologique en oxygène DBO (mg. l^{-1})

Les valeurs de DBO dans tous les piézomètres ont varié entre <0,5 et 4,9 mg.l⁻¹. La concentration de DBO est restée <1 mg.l⁻¹ dans PZ5, PZ7, PZ100, PZ110 et PZ 70 pour l'ensemble de l'étude. Les valeurs les plus élevées de DBO ont été mesurées dans PZ2, PZ3, PZ9, PZ30 et PZ90 en octobre 2014, soit respectivement 4.4, 1.7, 4.3, 1.5, 2.6 mg.l⁻¹. La concentration de DBO dans les piézomètres 2, 3 et 4 est restée stable (< 0.5 mg.l⁻¹) en octobre 2015 et avril 2016 (Figure 5.8). La concentration en DBO a varié de façon non significative entre les piézomètres (ANOVA, F=1.433, P= 0.166).

C - Carbone Organique Total COT (mg.l⁻¹)

En avril 2015, la valeur la plus élevée en COT (10,38 mg.l⁻¹) a été trouvée dans PZ9 et en octobre 2014 dans PZ 90 (6,77 mg.l⁻¹). La concentration en COT est restée <1 mg.l⁻¹ dans PZ3, PZ4, PZ70 et PZ80. Pour PZ2 et PZ110 les concentrations les plus élevées en COT ont été respectivement 2,78 mg.l⁻¹ en avril 2015 et 2.85 mg.l⁻¹ en octobre 2015. Pour PZ5, PZ6, PZ7 et PZ100, la valeur en COT est restée <2 mg.l⁻¹ pendant toute la période d'étude. Pour PZ8, la concentration la plus élevée a été de 4,08 mg.l⁻¹ en avril 2014. La concentration en COT a diminué dans tous les piézomètres en avril 2016 (Figure 5.9). La concentration en COT a varié de façon non significative entre les piézomètres (ANOVA, F=10.609, P= 0.1.619).



Figure 5.7: variation saisonnière en DCO dans les différents piézomètres.



Figure 5.8: variation saisonnière en DBO₅ dans les différents piézomètres.



Figure 5.9: variation saisonnière en COT dans les différents piézomètres.

5.3.4 Les espèces 'ioniques

1-Nitrates NO_3^- et nitrites NO_2^- (mg.l⁻¹)

Les plus fortes concentrations en NO₃⁻ (13, 8.1 et 11 mg.l⁻¹), respectivement, ont été enregistrées dans les piézomètres 30, 70 et 110 en octobre 2014 avec respectivement comme gamme de variation (3.1 - 13 mg.l⁻¹), (2.6 - 11 mg.l⁻¹) et (1.6 - 8.1 mg.l⁻¹). Pour les autres piézomètres la plage de concentration en NO₃⁻ se situait entre <0.5 et 3.9 mg.l⁻¹ à l'exception de PZ40 avec une valeur record de (4.9 mg.l⁻¹) en octobre 2013. Les concentrations en NO₃⁻ sont restées <0.003 mg.l⁻¹ dans tous les piézomètres en avril 2016 (Figure 5.10). La concentration en NO₃⁻ a varié de façon significative entre les piézomètres (ANOVA, F=2.299, P= 0.013).

Les valeurs le plus élevées en NO₂⁻ ont été enregistrées en octobre 2014 dans la suite des piézomètres PZ3 0,56 mg.l⁻¹, PZ90 1.3 mg.l⁻¹ et PZ110 0,2 mg.l⁻¹ et en avril 2016 dans les piézomètres PZ7 (2.2 mg.l⁻¹) et PZ80 (2.7 mg.l⁻¹). Dans les autres piézomètres les concentrations en NO₂⁻ ont varié entre <0.003 et 0.07 mg.l⁻¹ (Figure 5.11). La concentration en NO₂ varie de façon non significative entre les piézomètres (ANOVA, F=0.642, P= 0.818).
2 - Azote Kjeldahl (mg.l⁻¹)

La quantité d'azote Kjeldahl a été <1 mg.l⁻¹ dans la plupart des piézomètres sauf pour PZ9 où la concentration s'élevait à 3.7 mg.l⁻¹ en octobre 2014 et PZ 90 avec 1,5 mg.l⁻¹ en avril et en octobre 2014. La concentration d'azote kjeldahl a été élevée dans PZ 6 (26.7 mg.l⁻¹) en avril 2016, et dans PZ8 (10.7 mg.l⁻¹) en octobre 2015 (Figure 5.12). La concentration en azote Kjeldahl a varié de façon non significative entre les piézomètres (ANOVA, F=0.959, P= 0.504).

3 - Phosphore total ($\mu g.L^{-1}$)

La plus forte concentration en phosphore a été enregistrée dans PZ30 et PZ90 en octobre 2014 avec respectivement 1,73 μ g.l⁻¹ et 1,15 μ g.l⁻¹. Pour PZ7 une valeur de (2,87 μ g.l-1) a été enregistrée en avril 2015. Dans les autres piézomètres les concentrations en phosphore total sont restées (<0.5 μ g.l⁻¹) durant toute la campagne de collecte des échantillons. La concentration en phosphore total a diminué en avril 2016 dans tous les piézomètres (Figure 5.13). La concentration en phosphore a varié de façon non significative entre les piézomètres (ANOVA, F=1.264, P= 0.256).

4 - Fluorures F^{-} (mg.l⁻¹)

La concentration en ions fluorure se situait dans l'intervalle <0,05- 0,21 mg.l⁻¹ pour l'ensemble de piézomètres. Les concentrations en F⁻ étaient stables dans PZ8 (<0.05 mg.l⁻¹) en toutes saisons (Figure 5.14). La concentration en F⁻ a varié de façon non significative entre les piézomètres (ANOVA, F=32.535, P= 9.034).

5 - Matières en Suspension Totales MST (mg. l^{-1})

L'étude des matières en suspension a montré une grande variation en termes de quantité dans tous les piézomètres, et durant toutes les périodes d'échantillonnage. Pour certains piézomètres (PZ7, PZ30, PZ70, PZ90), la MST a été plus élevée respectivement en avril 2014 (15000 mg.l⁻¹), en octobre 2014, (13000 mg.l⁻¹), en octobre 2013 (5000 mg.l⁻¹) et en octobre 2014 (17000 mg.l⁻¹). Dans PZ3 la concentration la plus élevée (2000 mg.l⁻¹) a été enregistrée en avril 2014. Dans les autres piézomètres les concentrations sont restées comprises entre <2 et 600 mg.l⁻¹. La MST a diminuédans tous les piézomètres en octobre 2015. La concentration a augmenté dans les piézomètres 3, 4, 5, 7, 9, 30, 70, 80, 90, 100 et 110 en avril 2016 (Figure

5.15). La concentration en MST a varié de façon significative entre les piézomètres (ANOVA, F=3.600, P=0.002).



Figure 5.10 : variation saisonnière de la concentration en nitrate dans les différents piézomètres.



Figure 5.11 : variation saisonnière de la concentration en nitrite dans les différents piézomètres.



Figure 5.12 : variation saisonnière de la concentration en azote kjeldahl dans les différents piézomètres.



Figure 5.13 : variation saisonnière de la concentration en phosphore total dans les différents piézomètres.



Figure 5.14 : variation saisonnière de la concentration en fluorures dans les différents piézomètres.



Figure 5.15 : variation saisonnière du contenu en matières en suspension totales dans les différents piézomètres.

5.3.5 Les métaux

1- Arsenic As $(\mu g.l^{-1})$

Les résultats présentés dans la Figure 5.16 montrent que les valeurs de concentration en arsenic ont varié entre <1 - 46.2 μ g.l⁻¹. Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées dans PZ3 en octobre 2014. Les valeurs sont < 5 μ g.l⁻¹ pour tous les piézomètres sauf pour PZ100 9.7 μ g.l⁻¹ en octobre 2013 et PZ 7 en avril 2016. Les concentrations en arsenic ont augmenté au mois d'octobre 2014, dans la plupart des piézomètres avant de diminuer en avril 2015. La concentration en As a varié de façon significative entre les piézomètres (ANOVA, F=2.217, P= 0.017).

2- Cadmium Cd (μ g.l⁻¹)

La concentration en Cd ne dépasse pas $(2 \ \mu g.1^{-1})$, dans tous les piézomètres pendant toutes les campagnes d'échantillonnage, à l'exception de PZ30 (8.4 $\mu g.1^{-1}$) et de PZ90 (5.1 $\mu g.1^{-1}$), en octobre 2014. Les concentrations ont ensuite diminué au mois d'avril 2015. La concentration en Cd est resté stable (<2 $\mu g.1^{-1}$) dans tous les piézomètres en octobre 2015 et avril 2016 (Figure 5.17). La concentration en Cd a varié de façon non significative entre les piézomètres (ANOVA, F=1.159, P= 0.329).

3- Chrome Cr ($\mu g.l^{-1}$)

La concentration en Cr ne dépasse pas (10 μ g.l⁻¹), dans tous les piézomètres pendant toutes les campagnes d'échantillonnage, à l'exception des PZ9 (21.3 μ g.l⁻¹) en octobre 2013, PZ30 (61.7 μ g.l⁻¹) et PZ70 (13.3 μ g.l⁻¹) en octobre 2014. Les concentrations ont ensuite diminué en avril 2015. La concentration en Cr est restée stable (<2 μ g.l⁻¹) dans tous les piézomètres en octobre 2015 et avril 2016 (Figure 5.18). La concentration en Cr varie de façon non significative entre les piézomètres (ANOVA, F=1.005, P= 0.459).

4- Cuivre Cu ($\mu g.l^{-1}$)

Une augmentation de la concentration en cuivre a été enregistrée au niveau des piézomètres 7, 30 et 110, avec des valeurs comprises respectivement entre <5 et 226 μ g.l⁻¹, 15.6 et 184 μ g.L⁻¹ et 11 et 22.3 μ g.L⁻¹. La concentration en Cu a ensuite diminué dans les piézomètres au mois d'avril 2015, sauf pour PZ7 (11,7 μ g.l⁻¹). (Figure 5.19). La concentration en Cu a varié de façon significative entre les piézomètres (ANOVA, F=2.000, P= 0.032).

5- Mercure Hg (μ g.l⁻¹)

La concentration en mercure n'a pas réellement varié, dans tous les piézomètres pendant les périodes d'échantillonnage. Les concentrations étaient <0.015 μ g.l⁻¹ dans la plupart des piézomètres (Figure 5.20). La concentration en Hg a varié de façon significative entre les piézomètres (ANOVA, F=1.801, P= 0.050).

6- Nickel Ni ($\mu g.l^{-1}$)

Les concentrations en Ni les plus élevées ont été enregistrées au cours du mois d'octobre 2014 dans PZ90 (259 μ g.l⁻¹) et PZ30 (115 μ g.l⁻¹). La concentration en Ni pour PZ50 était comprise entre 106 et 175 μ g.l⁻¹, variait entre 1.06 et 60.5 μ g.l⁻¹, la valeur la plus élevée (60.5 μ g.l⁻¹) provenant de PZ80 en octobre 2015. La concentration en Ni a ensuite diminué dans tous les piézomètres pendant la dernière campagne de collecte des échantillons en avril 2016 (Figure 5.21). La concentration en Ni a varié de façon non significative entre les piézomètres (ANOVA, F=6.823, P= 4.616).

7- Plomb Pb ($\mu g.l^{-1}$)

Les valeurs les plus élevées de concentration en Pb ont été enregistrées au cours du mois d'octobre 2014, dans les PZ7, PZ8, PZ30, PZ70, PZ80 et PZ90 avec respectivement (146, 50, 399, 120, 86.9 et 202 μ g.l⁻¹). La concentration la plus élevée (399 μ g.l⁻¹) a été enregistrée dans PZ30 au mois d'octobre 2014. La concentration en Pb a ensuite diminué dans tous les piézomètres, pendant la dernière campagne de collecte des échantillons en avril 2016 (Figure 5.22). La concentration en Pb a varié de façon non significative entre les piézomètres (ANOVA, F=1.513, P= 0.134).

8- Zinc Zn (μ g.l⁻¹)

La plus forte concentration en zinc a été enregistrée au mois d'octobre 2014, dans PZ3 (209 μ g .l⁻¹), PZ5 (558 μ g.l⁻¹), PZ8 (251 μ g.l⁻¹), PZ30 (571 μ g.l⁻¹), PZ70 (261 μ g.l⁻¹), PZ80 (508 μ g.l⁻¹) et PZ90 (2228 μ g.l⁻¹). Concernant, PZ7 et PZ110, les valeurs de concentration étaient de 392 et 4410 μ g.l⁻¹ en avril 2015. L'analyse de la (Figure 5.23) révèle une diminution de la concentration en zinc dans les piézomètres (3, 50, 30, 70, 80, 90 et 110) au mois d'avril 2016. La concentration en Zn a varié de façon non significative entre les piézomètres (ANOVA, F=0.975, P= 0.488).



Figure 5.16 : variation saisonnière de la concentration en arsenic dans les différents piézomètres.



Figure 5.17 : variation saisonnière de la concentration en cadmium dans les différents piézomètres.



Figure 5.18 : variation saisonnière de la concentration en chrome dans les différents piézomètres.



Figure 5.19 : variation saisonnière de la concentration en cuivre dans les différents piézomètres.



Figure 5.20 : variation saisonnière de la concentration en mercure dans les différents piézomètres.



Figure 5.21 : variation saisonnière de la concentration en nickel dans les différents piézomètres.



Figure 5.22 : variation saisonnière de la concentration en plomb dans les différents piézomètres.



Figure 5.23 : variation saisonnière de la concentration en Zinc dans les différents piézomètres.

	Pz2	Pz3	Pz4	Pz50	Pz6	Pz7	Pz8	Pz9	Pz30	Pz40	Pz70	Pz80	Pz90	Pz100	Pz110
No3	1.162	0.834	1.759	1.682	0.962	0.572	0.284	0.401	5.717	0.962	3.719	0.219	0.460	0.721	4.354
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	1.492	1.566	1./13	1.951	1.549	1.003	0.235	0.379	5.743	1.960	3.603	0.202	0.516	0.933	4.788
No2	0.094	0.099	0.125	0.007	0.078	0.431	0.149	0.268	0.490	0.003	0.201	0.455	0.233	0.007	0.795
	т 0.214	т 0.226	⊥ 0.182	± 0.003	± 0.173	т 0.874	± 0.348	т 0.604	т 1.181	± 0.004	т 0.441	± 1.100	т 0.523	т 0.003	± 1.627
Indica HCT	0.038	0 140	0.033	0 125	0.035	0 232	0.068	0.035	0 155	0.025	0.038	0.060	0 167	0.053	0.057
C10-C40	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
010 010	0.004	0.231	0.008	0.133	0.008	0.318	0.084	0.005	0.159	0.020	0.004	0.064	0.306	0.053	0.046
Indice cyanures	8.500	8.500	8.500	9.667	13.000	8.500	8.500	8.500	8.500	8.500	8.500	8.500	8.500	8.500	9.500
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.837	0.837	0.837	2./33	10.807	0.837	0.837	0.837	0.837	0.837	0.837	0.837	0.837	0.837	2.345
Indices Phénols	68.333 +	34.500 +	27.500 +	36.500 +	28.167 +	20.500 +	39.000 +	30.167 +	47.167 +	10.000	38.667 +	22.500 +	26.167 +	22.333	58.000 +
	∸ 70.967	<u>-</u> 22.519	⊥ 18.371	<u>-</u> 28.112	<u>-</u> 16.005	<u>.</u> 0.837	<u>-</u> 38.812	- 18.552	∸ 38.463	<u> </u>	∸ 42.852	<u>-</u> 6.124	<u> </u>	<u>-</u> 5.715	∸ 76.000
DCO	2.900	1.500	1.500	1.933	1.733	2.167	3.383	11.133	2.233	1.133	1.500	1.633	7.883	1.767	3.033
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.822	0.000	0.000	1.061	0.572	0.776	4.613	2.557	0.585	1.499	0.000	0.327	2.477	0.413	1.204
DBO ₅	1.433	0.717	0.700	2.083	1.400	0.800	1.017	1.350	0.767	0.383	0.600	0.717	1.350	0.683	0.700
	± 1 511	± 0.508	± 0.283	± 1 869	± 0.996	± 0518	± 1.096	± 1 /08	± 0 / 22	± 0.475	± 0.228	± 0 279	± 1 089	± 0.248	± 0.297
	1.511	0.305	0.203	0.727	0.350	0.510	1 1 2 2	6 122	1 1 25	0.209	0.220	0.275	2.053	0.240	2 157
COT	1.750 ±	0.295 ±	0.525 ±	0.757 ±	0.415 ±	0.055 ±	1.152 ±	0.125 ±	1.155 ±	0.596 ±	0.397 ±	0.495 ±	5.055 ±	0.947 ±	2.157 ±
cor	0.652	0.223	0.444	0.536	0.395	0.478	1.471	2.328	0.730	0.628	0.299	0.342	2.478	0.524	0.707
Arsenic	3.417	14.483	3.417	6.412	3.808	13.883	5.205	3.683	7.733	2.000	5.992	5.022	10.750	8.550	3.662
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	1.429	16.430	1.429	2.482	0.469	10.245	4.051	1.686	8.617	2.191	4.451	1.463	11.206	2.996	0.829
Chrome	1.300	1.550	1.067	2.250	0.917	5.183	1.650	4.783	12.083	0.600	4.300	3.367	8.550	1.350	1.867
	± 0.651	± 1 164	± 0.409	± 2 212	± 0.204	± 2 420	± 1 0/0	± 0 101	± 24.255	± 0.602	± 1 010	± 2 220	± 12 202	± 0 644	± 2 1/6
	0.031	1.104	0.400	3.313	0.204	J.42U	1.040	0.104	24.333	0.035	4.343	3.230	13.202	0.044	2.140
Mercure	0.011	0.031	0.011	0.012	0.011	0.021	0.012	0.020	0.011	0.006	0.011	0.021	0.070	0.021	0.011
	Ŧ	T	T	T	T	Ŧ	1	T	T	Ţ	1	T	Ŧ	T	Ŧ

Tableau 5.2 : concentration des différents paramètres (moyenne ± type écart) au niveau des piézomètres (octobre 2013 - avril 2016).

	0.001	0.044	0.001	0.004	0.001	0.024	0.001	0.014	0.001	0.006	0.001	0.024	0.097	0.024	0.001
Plomb	3.033	5.600	1.500	4.833	1.867	54.217	19.067	4.050	90.300	0.583	23.700	24.567	45.083	4.683	5.233
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	2.914	5.274	0.777	3.130	0.958	56.580	22.887	3.668	158.895	0.665	47.228	32.030	87.120	2.684	2.729
Cadmium	1 103	1 065	1 070	1 215	1 037	1 345	1 086	1 041	2 483	0 550	1 005	1 134	1 823	1 003	1 117
Caumum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	_ 0.593	_ 0.524	_ 0.571	- 0.712	- 0.546	_ 0.313	- 0.537	- 0.530	_ 2.930	_ 0.612	_ 0.447	_ 0.294	_ 1.622	_ 0.544	- 0.515
Cuivro	5 167	4 905	3 4 5 5	3 615	3 433	56 100	4 195	4 100	52 083	2 417	13 325	4 073	7 317	3 500	14 983
cuivie	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5.007	1.650	1.007	1.205	1.424	- 86.967	2.284	0.704	68.596	2.894	19.072	0.722	5.112	1.008	6.874
Niekol	1 677	2 067	2 217	1/2 922	1 102	20 217	12 022	9 217	27.092	2 600	12 292	24 117	60 167	11 022	7 092
NICKEI	+	5.907 +	2.31/ +	+	+	20.317	+	0.217 +	27.085 +	+	+	24.11/ +	+	+	7.085 +
	<u>-</u> 0 953	÷ 3 690	∸ 1 219	∸ 28 174	∸ 0 431	± 21 671	∸ 15 876	∸ 5 379	<u>+</u> 43 679	÷ 3.098	<u>+</u> 20 750	∸ 27 820	÷ 97 632	∸ 2 254	± 4 298
7:	11 467	02.007	4 202	400 267	4 267	126.050	100.267	5.575	142 402	4.350	E0.750	100 217	405 092	E.267	7.230
ZINC	+	65.607 +	4.205	400.207	4.207	+	+	5.500 +	145.465	4.250	52.050	+	405.985	5.207 +	/54./65
	⊥ 17 367	⊥ 76 460	⊥ 0 232	- 204 634	⊥ 0 242	⊥ 155 238	- 102 098	⊥ 1 993	⊥ 216 128	∸ 6 780	⊥ 102 227	⊥ 226 182	± 893.057	<u>-</u> 1 623	∸ 1790 722
	1/100/	701100	0.202	20 1100 1	0.2.12	100.200	101.050	1.550	210/120	01700	101.111		0501007	1.010	1/50//12
Azote Kieldahl	0.650	0.533	0.600	0.583	4.983	0.583	2.283	1.717	0.583	0.333	0.650	0.533	1.133	0.650	0.533
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.259	0.234	0.210	0.133	10.641	0.133	4.125	1.360	0.133	0.378	0.259	0.234	0.622	0.259	0.234
Fluorures	0.051	0.170	0.050	0.180	0.104	0.150	0.043	0.060	0.047	0.030	0.090	0.044	0.065	0.055	0.050
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.015	0.026	0.015	0.032	0.023	0.014	0.003	0.029	0.012	0.036	0.022	0.005	0.024	0.014	0.013
Phosphore	0.124	0.177	0.054	0.038	0.030	0.648	0.043	0.024	0.354	0.011	0.153	0.038	0.237	0.047	0.029
i noopnore	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.127	0.183	0.070	0.045	0.028	1.119	0.035	0.015	0.680	0.016	0.234	0.021	0.450	0.034	0.012
Matières	53.633	506.633	5.517	33.850	53.000	6161.667	119.500	236.833	3841.167	22.950	2354.500	160.833	6300.000	127.500	141.833
en suspension	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
totale	75.090	747.590	6.134	43.609	43.699	6560.581	138.221	182.277	4725.030	35.879	2231.515	112.918	6152.723	232.457	131.955

5.4 Discussion

La pollution des eaux souterraines est causée par la présence de matériels indésirables, dangereux et pathogènes au-delà de certaines limites. Une grande partie de la pollution est due aux activités anthropiques comme la décharge d'eaux usées, d'effluents et des déchets de l'établissement domestique et industriel. Aussi, la pollution des eaux souterraines est généralement plus prononcée pendant la saison des pluies en raison du taux d'infiltration de lixiviat, de la percolation et de la migration.

L'impact des lixiviats de décharge à la surface et au niveau des eaux souterraines a donné lieu à un grand nombre d'études au cours des dernières années. La gravité entraîne un déplacement du lixiviat, au fond et sur les côtés de la mise en décharge, ainsi qu'à travers le sol sous-jacent jusqu'à ce qu'il atteigne la zone des eaux souterraines. Le lixiviat se mélange avec les eaux souterraines et se déplace le long du trajet d'écoulement de l'eau souterraine en tant que panache d'eau souterraine contaminé. Les contaminants de lixiviat pénètrent d'abord dans la zone non saturée et finalement, sont transportés vers la nappe phréatique dans la zone saturée.

En général, la température des eaux souterraines est liée à celle de l'air ambiant, par conséquent, les valeurs les plus élevées sont attendues en été. Il est à noter que la température des eaux souterraines était proche de celle du corps de la décharge, ce qui dépend non seulement des températures élevées de l'air ambiant en été, mais surtout de la chaleur issue de la fermentation lors de la décomposition des déchets organiques (réaction exothermique). Les températures des eaux souterraines sont plus élevées à l'intérieur du panache de lixiviats et tendent à diminuer en aval. Quelle que soit la saison de recherche, les températures de l'eau les plus élevées ont été mesurées dans le piézomètre localisé à proximité de la décharge (**Porowska, 2014**).

Les valeurs de conductivité obtenues lors de cette étude (comprises entre 33 et 650 µs.cm⁻¹). sont comparables à celles rapportées les années précédentes. Ces valeurs élevées peuvent être attribuées à des niveaux élevés en différents anions. Des niveaux élevés d'eaux souterraines ont été apparemment associés avec de faibles concentrations de conductivité électrique CE. Ce rapport indique qu'il y a une possibilité d'effet de dilution provenant de l'extérieur des limites de la décharge, éventuellement la pluie ou la fonte des neiges ou les deux.

Il est plausible de supposer que des précipitations peuvent affecter la qualité des ressources en eau souterraine dans des portions ou l'eau de pluie s'infiltre dans le sol et devient une partie intégrante de l'eau souterraine. La comparaison des variations temporelles de la qualité de l'eau souterraine et des précipitations sont capables de révéler l'impact que la pluviométrie pourrait avoir sur la qualité des eaux souterraines.

Les changements dans la qualité des eaux souterraines aux environs de la décharge peuvent refléter les activités et les changements dans des opérations sur la mise en décharge. La (CE) est utilisée comme un indicateur de la qualité générale de l'eau souterraine. Dans laquelle le transfert de lixiviat se traduirait par une forte valeur de CE, en accord avec **Mor et al**, (2006) ; Longe et Enekwechi (2007).

Les résultats présentés dans le Tableau 5.1 montrent que le pH variait entre 6,58 et 9, ce qui est adapté aux bactéries méthanogènes. La gamme de pH observée était légèrement alcaline. Les lixiviats alcalins sont des indicateurs de phases finale (phase méthanogène) de réactions biochimiques dans un site d'enfouissement (**Fatta et al., 1999**). Une gamme de pH similaire entre 6,6 et 7,5, a été documentée par **Deng et Englehardt** (**2007**) pour des lixiviats de plusieurs décharges municipales âgés de 5 à 10 ans.

Le nitrate est un contaminant conservateur, il n'est affecté ni par les processus biochimiques qui se déroulent dans le corps de la décharge ni par les réactions de décontamination naturelles dans lesquelles le lixiviat est impliqué lors de sa pénétration dans la zone non saturée. Donc, le nitrate constitue une menace sérieuse pour la zone 'aquifère de la région.

La diminution du rapport DBO / DCO reflète une baisse de la biodégradabilité du lixiviat et peut être attribuée à des processus de biodégradation survenant dans la décharge.

Cependant, les eaux souterraines contiennent peu ou pas de matière organique. La DBO moyenne et les concentrations en DCO de tous les piézomètres variaient respectivement entre <0,5 et 4,9 mg.l⁻¹ et <214,6 mg.l⁻¹. Ceci indique qu'il n'y a aucune contamination organique de la solution de lixiviation dans l'eau souterraine entourant le site.

Dans cette étude, les concentrations en métaux lourds pour tous les piézomètres présentaient des valeurs peu élevées.

La conductivité élevée et les valeurs de DCO peuvent être dues à la présence de lixiviats de décharge dans les piézomètres situés à proximité du site et à la concentration organique produite par elle.

De faibles valeurs de DBO comparées avec les mesures COD confirment que les échantillons d'eau souterraine contiennent de grandes quantités de matières organiques non biodégradables.

Les services du ministère de la santé de l'état du New Jersey (NJDHSS) ont étudié 20 puits de pollution adjacents à la décharge municipale Dover Township (DTML) en 1997. Les résultats obtenus montrent que 90% de ces puits contenaient moins de plomb (1,5 à 27,41 mg.l⁻¹) que ceux de la présente étude.

En général, le nombre de micro-organismes dans les zones aquifères non polluées est très faible. Cependant, quand le lixiviat, riche en matières organiques dissoutes, pénètre dans les eaux souterraines, la composition originelle de la population microbienne de la zone aquifère va changer radicalement. Les micro-organismes sont soupçonnés d'être responsables de certains processus chimiques, tels que la réduction des sulfates, du fer, du manganèse, des nitrates, de la dégradation de la matière organique dissoute et de la production de méthane (**Ludvigsen et al., 1998**). Les micro-organismes sont également en mesure de solubiliser des graisses, des glucides et des protéines (**Jackson 1980**). L'action détaillée de l'atténuation des composants du lixiviat par les micro-organismes présents dans les zones aquifères a été discutée par **Acton et Barker (1992)**, (**Albrechtsen et al., 1995**), et (**Roling et al., 2001**).

Les changements de la qualité du lixiviat en relation avec la pluviométrie ne peuvent être généralisés avec un degré de confiance suffisant. Divers composants du lixiviat ont montré différentes relations avec les quantités de précipitations. La plupart des paramètres qui caractérisent le lixiviat (comme le cobalt, le nickel, le cadmium, la CE, la COD et l'alcalinité) présentent une corrélation négative avec les précipitations, suggérant des effets de dilution d'autres comme l'aluminium, le fer et le manganèse sont corrélés positivement.

Il y a plusieurs facteurs qui affectent la qualité de la lixiviation dans les eaux, comme l'absorption, les atténuations et précipitations, ce qui implique que les ions changent et la dégradation et l'augmentation de la distance de la source (**Christensen et al, 2001; Van Breukelen, 2003; Hubé et al, 2011**).

Les concentrations de la plupart des composés chimiques dans les eaux souterraines ne sont pas aussi élevées que dans le lixiviat. Cela implique que les constituants chimiques dans le lixiviat sont atténués par dilution, adsorption ou échange d'ions, à leur entrée dans les eaux souterraines. Les géomembranes des décharges ont également un effet d'atténuation sur le lixiviat (Christensen et al., 2001).

Les déchets placés dans une décharge sont soumis à un débordement des eaux souterraines, des infiltrations, des précipitations et à l'eau qui percole à travers les déchets. Ils ramassent une variété de composés organiques et inorganiques, en provenance des déchets ou accumulées au fond de la décharge. L'eau contaminée résultante est appelée «lixiviat» et peut percoler à travers le sol (**Mor et al., 2006**). Les lixiviats des décharges municipales sont des effluents complexes hautement concentrés qui contiennent des matières organiques dissoutes des composés inorganiques tels que l'ammonium, le calcium, le magnésium, le sodium, le potassium, le fer, les sulfates, les chlorures, des métaux lourds tels que le cadmium, le chrome, le cuivre, le plomb, le zinc, le nickel; et des substances organiques xénobiotiques (**Lee et Jones-Lee, 1993; Christensen et al., 2001**).

La composition des lixiviats varie largement en fonction de nombreux facteurs interdépendants tels que la composition et la profondeur des déchets, la disponibilité en oxygène, l'humidité, la conception, le fonctionnement et l'âge des sites d'enfouissement (**Reinhart et Grosh, 1998**). La composition du lixiviat est principalement fonction de l'âge de la décharge et du degré de stabilisation des déchets (**Pohland et Harper, 1985**).

La valeur élevée des matières en suspension obtenue dans cette étude, peut être due à la lixiviation de divers polluants dans les eaux souterraines. **Olaniya et Saxena** (1977) ont également signalé la pollution des eaux souterraines à partir de déchets situés à proximité des sites de décharge et détectables par une augmentation de la concentration de MST dans l'eau.

En général, une corrélation significative indirecte entre Na^+ , CE et les matières dissoutes totales avec la distance à partir de la décharge montre que les concentrations de contaminants dans l'eau souterraine diminuent avec l'augmentation de la distance à la source de pollution. (Aderemi et al., 2011).

Le pH exerce une influence directe sur le comportement des métaux lourds dans les systèmes environnementaux. Dans le cas des métaux lourds comme Pb, Cu, Zn, Cr et Ni, leur solubilité augmente avec une diminution du pH du sol (**John et Levanthal1995**). généralement, la capacité du sol à immobiliser les métaux lourds augmente avec l'augmentation du pH, et présente des pics dans des conditions légèrement alcalines (**Elzahabi et al., 2001**). Dans une gamme de pH acide comprise entre 4.2 - 6.6, Ni et Zn sont très mobiles, Cr est modérément

mobile, Cu et Pb pratiquement immobile, et dans des conditions neutres à alcalines (pH 6,7 et 7,0), Cr est très mobile, Zn modérément mobiles et Ni est immobile (**Aydinalp et al., 2003**). D'autres procédés tels que la capacité d'adsorption et les réactions d'oxydo réduction (redox), jouent également un rôle-clé. L'adsorption des métaux lourds augmente avec l'augmentation du pH, et pour les réactions d'oxydoréduction, le pH influe indirectement sur leur intensité (**Aydinalp et al., 2003**).

Les métaux lourds peuvent exister en solution sous forme d'ions libres ou complexés avec d'autres composés inorganiques ou organiques dissous. Les métaux lourds ont tendance à former des complexes avec la matière organique dans le sol (acides humiques et fulviques) et avec des ligands inorganiques. Un complexe métallique est une espèce dissoute qui existe en raison de l'association d'un cation métallique avec un anion ou une molécule neutre (**Boulding et al., 2004**). Le cation métallique est appelé l'atome central, et les anions, souvent appelés ligands, comptent de nombreuses espèces inorganiques communes trouvés dans les eaux souterraines, telles que S²⁻, CO₃²⁻, SO₄²⁻, PO₄³⁻, NO³⁻et Cl⁻. Le transport du Cr, Ni et Pb est facilité lorsque ces métaux sont complexés. Par exemple, la mobilité du Ni dans le sol peut augmenter quand ce métal de transition forme des complexes solubles avec des ligands organiques (**Boulding, 1996**).

Les précipitations réduisent la mobilité alors que la dissolution augmente la mobilité des contaminants. La précipitation et la dissolution des métaux lourds sont très dépendantes du potentiel d'oxydo réduction, du pH du sol/système d'eaux souterraines et dépendent également de la présence d'anions et cations (**concurrentes Boulding et al., 1996**).

Les métaux dissous peuvent être transférés de la phase aqueuse à la phase solide (phase de distribution) à travers le processus d'adsorption, processus qui est habituellement ou partiellement réversible (désorption.) (**Boulding, 1996**).

Dans les eaux souterraines le potentiel redox est faible lorsque l'oxygène est absent, mais élevé si elle est présente. L'environnement natif des eaux souterraine est généralement un milieu réducteur, mais des conditions oxydantes peuvent être créées par la pollution (**McCreadie et al., 1993**).

Le pH des eaux souterraines a indiqué des conditions acides, ce qui pourrait être attribué à des contaminants métalliques, mais à de faibles concentrations. Le pH est l'un des facteurs qui influent sur le devenir et le transport de contaminants dans l'environnement. Une

augmentation de l'acidité (pH bas) peut favoriser la dissolution de certains métaux et nutriments dans l'eau, libérant ainsi des éléments toxiques qui peuvent polluer les eaux souterraines. Inversement, un (pH élevé) peut entraîner une insolubilité de certains nutriments qui deviennent dès lors indisponibles pour la croissance des plantes. Lorsque le pH du sol est supérieur à 7.5 le calcium peut fixer le phosphore, ce qui le rend moins disponibles pour les plantes (**Lake, 2000**).

Les principaux contrôles sur le pH dans le lixiviat anaérobie sont : (1) la dégradation de la matière organique produisant de grandes quantités de CO_2 , ce qui favorise la formation d'acide carbonique et abaisse le pH et (2) la production de NH_4^+ de CH_4 et la réduction des oxydes de Fe et Mn, lesquels consomment l'hydrogène et font augmenter le pH (**Porowska**, **2014**).

La haute concentration en HCO_3^- mesurée est susceptible de provenir de la biodégradation de la matière organique à l'intérieur de la décharge. La matière organique dans les décharges municipales de déchets solides subit généralement une décomposition méthanogène, avec la production de dioxyde de carbone et de méthane en tant que produits terminaux (**Hayes**, 2001).

Une seule mesure de la concentration en NH_4^+ a montré des valeurs supérieures à la zone contaminée en PZ9 (3.7 mg.l⁻¹). Une tendance similaire a été observée par **Cozarelli et al.**, (2011) dans les eaux souterraines de la décharge Norman. Par conséquent, on peut supposer que l'espèce dominante de l'azote dans ce milieu contaminé est l'ion d'ammonium.

Selon (Fatta et al., 1999), les nitrates sont des contaminants conservateurs, car ils ne sont pas affectés par les processus biochimiques et les processus de décontamination naturels qui se déroulent à l'intérieur de la décharge ainsi que ceux liés à leur infiltration dans la zone non saturée.

Les valeurs en ammoniac obtenues dans cette étude sont relativement faibles et non suffisantes pour inhiber les activités des micro-organismes qui favorisent les processus anaérobies. La présence de PO_4^- dans un lixiviat est dangereuse, car sa présence dans l'eau augmente l'eutrophisation en favorisant la croissance des algues (Adekunle et al, 2007).

Les zones près des décharges ont une plus grande possibilité de contamination des eaux souterraines en raison de la source de pollution potentielle du lixiviat provenant du site à proximité. Une telle contamination des ressources en eau souterraine pose un risque important à l'utilisateur des ressources locales et à l'environnement naturel. L'impact du lixiviat de décharge sur la surface et les eaux souterraines a donné lieu à un certain nombre d'études au cours des dernières années (Saarela, 2003; Abou Rukah et Kofahi, 2001; Looser et al., 1999; Christensen et al., 1998; De Rosa et al., 1996; Flyhammar, 1995).

Du phénol a été également observé dans des échantillons d'eau et sa concentration variait de (0,0206 à 2,87 mg.l⁻¹), Ces résultats laissent supposer que les eaux souterraines à proximité du site d'enfouissement sont significativement affectées par le lixiviat. Toutefois, ce phénomène n'a été observé pas très ponctuellement.

Les valeurs élevées des matières en suspension peuvent être dues à la lixiviation de divers polluants dans les eaux souterraines. **Olaniya et Saxena** (1977) ont également signalé la pollution des eaux souterraines à base de déchets à proximité des sites de décharge détectables par une augmentation de la concentration de MST dans l'eau (Mor et al., 2006). La concentration en Pb, Cd, Cr et Ni a été jugée inférieure à la limite de détection dans les échantillons d'eau souterraine. Cela indique probablement que ce métal peut être adsorbé par les couches du sol ou par de la matière organique présente dans le sol (Mor et al., 2006).

Conclusion

L'eau souterraine est une ressource renouvelable universellement précieuse pour la vie humaine et le développement économique. Cette étude indique que la décharge d'Étueffont montre des impacts limités sur l'environnement.

Notre étude hydrochimique montre que les eaux souterraines de la décharge d'Étueffont sont caractérisées par une faible teneur en produits chimiques organiques et inorganiques. Bien que la concentration de plusieurs autres paramètres dans les eaux souterraines soit dans les limites permises, mais il est important et est stimulant que l'eau du sol aurait dû être libre de toute forme de contamination.

La principale source de pollution est liée à l'infiltration de lixiviat qui forte charge polluante est au contact direct du lixiviat avec les eaux de l'aquifère dans les porteurs de décharge. Une attention particulière devra être accordée aux piézomètres situés en aval gradient de la décharge et dans le sens de l'écoulement des eaux souterraines. Les résultats obtenus, permettent de conclure que :

La conductivité des eaux souterraines était faible à très faible dans les piézomètres PZ2 et PZ4. Le pH était relativement stable autour de la neutralité à l'exception de PZ50, où la nappe apparaissait plus acide (pH 6) et PZ3 où l'eau souterraine était plus basique (pH 8). La concentration des paramètres examinés a été analysée, discutée et expliquée avec des outils statistiques pertinents. L'ion hydrogène (pH) a le plus haut degré de corrélation avec d'autres variables examinées, c'est-à-dire que la concentration d'ion hydrogène dans l'eau influence directement certains paramètres. Le plus important est leur réduction par rapport au temps.

Certaines teneurs sont supérieures à celle de l'Arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique.

Une nette augmentation des indices phénols a été observée sur plusieurs piézomètres (en PZ 3 en avril 2014 et en PZ 100 en avril 2015), avec notamment des dépassements du seuil de 100 μ g.l⁻¹ fixé par l'Arrêté du 9 septembre 1997 relatif aux installations de stockage de déchets non dangereux pour PZ8, PZ30, PZ70 et PZ 110, situés sur le côté nord du site.

Les anomalies en nickel et zinc ont été relevées dans le piézomètre amont (PZ50), avec des ordres de grandeur identiques aux campagnes d'octobre et avril 2014. L'anomalie en cadmium n'est pas présente sur cette campagne. La position amont du piézomètre rend impossible un lien avec l'ISDND.

Cette même anomalie avait été détectée fin 2013, dans l'autre piézomètre amont PZ5 (plus ancien, remplacé par PZ50). Les ordres de grandeurs étaient similaires.

Une forte anomalie en nickel était relevée dans le piézomètre amont (PZ50 (nouvel amont)) en octobre 2014. La teneur est moins de 9 fois supérieure à la limite des eaux destinées à la consommation humaine. Cette teneur ne se retrouve pas dans les piézomètres à l'aval. La position amont du piézomètre rend impossible un lien avec l'ISDND.

Cette même anomalie avait été détectée fin 2013, dans l'autre piézomètre amont PZ5 (plus ancien, remplacé par PZ50). Les ordres de grandeur étaient similaires. Le lien avec l'ISDND reste impossible, les études hydrogéologiques pointues réalisées sur site dans les différentes

thèses suppriment tout doute à ce sujet. Le fait de retrouver cette anomalie démontre qu'il s'agit bien de la signature chimique de l'amont de la nappe. La nature et l'emplacement du piézomètre n'est pas en cause. L'origine de cette anomalie peut être naturelle (fond hydrogéochimique, y compris liée à une minéralisation dans les fissures des schistes).

Chapitre 6

Les effets des métaux lourds sur les échanges gazeux et la fluorescence des chlorophylles dans (Typha latifolia)

6.1 Introduction

Les plantes macrophytes immergées ont démontré au travers de multiples études leur tolérance à des niveaux de pollution élevés et leur capacité à accumuler et stocker les métaux lourds, à les séquestrer dans les parties souterraines (racines) et dans une moindre mesure dans la partie aérienne et ce en relation avec le contenu dans les sédiments. Appartenant à la famille des Typhacées, la macrophyte immergée *Typha latifolia* est l'une des espèces de zones humides les plus productives (en terme de biomasse produite et de vitesse de croissance), avec une extension rapide par ses rhizomes et ses racines. Largement distribuée dans les écosystèmes aquatiques à la fois dans des zones inondées et les zones humides, cette espèce est communément utilisée pour éliminer les métaux toxiques dans les systèmes de lagunage utilisés pour le traitement des eaux usées (**Dunbabin and Bowmer; 1992; Kadlec and Knight, 1996; Ye et al., 1997; APHA, 1998; Mays and Edwards, 2001; Maddison et al., 2005; Toet et al., 2005; Southichak et al., 2006; Lesage et al., 2007a, 2007b; Vymazal et al., 2010 ; Grisey et al., 2012; Anjum et al., 2012; Stefanakis and Tsihrintzis, 2012, Anning et al., 2013).**

6.2 Matériels et Méthodes

6.2.1 Analyse des métaux lourds et métalloïdes

6.2.1.1 Echantillonnage du sédiment et des macrophytes

Des triplicats de végétaux (parties souterraines et aériennes de *T. latifolia*) et de sédiments ont été prélevés individuellement et traités séparément pour chaque parcelle de 1 m^2 située à proximité de l'entrée du système de lagunage et à la sortie des quatre bassins interconnectés du système. Deux campagnes d'échantillonnages ont été réalisées : une première au cours de la croissance des *T. latifolia* au printemps (Mai 2011), et une seconde au cours de l'été au maximum de développement des végétaux (Août 2011).

6.2.1.2. Préparation des échantillons de macrophytes

Pour les 36 échantillons, chaque ensemble de racines/rhizomes et tiges/feuilles a été

soigneusement rincé plusieurs fois avec de l'eau déionisée avant séchage à l'étuve à 80°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant (Environ 24 h) (**Mishra et al., 2008**).

Les échantillons secs ont ensuite été réduits en poudre dans un mortier pour l'analyse. Pour chaque plante, 1 g d'échantillon de poids sec a été minéralisé avec 3 ml HNO₃ et 1 ml de H_2O_2 à 105°C pendant 3 heures dans un système à micro-ondes, selon la norme NF EN ISO 15587-2 (2002) avant l'analyse par ICP-OES (Thermofisher Scientific iCAP 6000).

6.2.1.3. Préparation des échantillons de sédiments

Pour les 6 parcelles d'échantillonnage, trois échantillons répétés ont été recueillis avec un carottier (10 cm de diamètre) à environ 10-15 cm de profondeur de façon à recueillir à la fois les dépôts de boue et une petite partie de l'argile sous-jacente. Après avoir été tamisés (tamis en polypropylène de maille 5,0 mm) pour séparer les différentes fractions de sédiment et éliminer les fragments de plantes, les échantillons ont été laissés au repos et l'eau a ensuite été décantée.

Les fractions de sédiments argileux ont été congelées à -18 ° C, selon la norme NF EN13346 Annexe A. Après homogénéisation en utilisant un mortier et un pilon, et tamisé à sec à travers un tamis de maille 2,0 mm en polypropylène, 1 g de chaque échantillon de sédiment a été digéré avec 3 ml de HNO3 et 9 ml de HCl à 105°C pendant 3 heures dans un système à micro-ondes. Tous les instruments ont été nettoyés avant et après chaque échantillon avec HNO₃ 10% puis rincés à l'eau distillée.

6.2.1.4. Analyse des échantillons

La concentration des éléments traces dans les échantillons de sédiment et de végétaux a été déterminée par ICP-OES (720 -ES, VARIAN).

Des standards internationaux certifiés ont été utilisés au début et à la fin de chaque lot d'échantillons pour la justesse et la précision des mesures réalisées : pour les végétaux, le standard utilisé est INCT-TL-1 et pour les sédiments CRM-029. La performance de l'instrument lors de l'analyse a été contrôlée au moyen d'un étalon interne.

Pour les deux analyses des échantillons de macrophyte et de sédiment, des standards de contrôle internes ont été analysés avec chaque échantillon et un duplicata a été exécuté tous les dix échantillons.

Les limites de détection de l'ICP-OES étaient de 0,02 mg.l⁻¹ pour As, Fe, Mn, Ni et Zn ; 0,01 mg.l⁻¹ pour Cd, Cr et Cu.

Les concentrations mesurées ont été exprimées en mg.kg⁻¹ de poids sec pour les sédiments et les macrophytes.

6.2.1.5. Détermination des paramètres de phytoremédiation

Les propriétés de translocation de *T. latifolia* ont été calculées pour chaque élément étudié. Le coefficient d'enrichissement (EC) est décrit comme le rapport entre la concentration d'un élément dans les sédiments et la concentration mesurée dans les parties racinaires (Racine + Rhizome = EC_BG) et dans les parties aériennes de la plantes (Tige + Feuille = EC_AG) (Sasmaz et Sasmaz, 2009) :

EC_BG = Croot_rhizome / Csediment. EC_AG = Cstem_leaf / Csediment.

Le facteur de translocation (TLF) a été calculé comme rapport entre la concentration d'un élément dans les parties racinaires et la concentration mesurée dans les parties aériennes de la plante. Ce rapport est donné par l'équation suivante :

TLF = Cleaf / Croot (Sasmaz et Sasmaz, 2009).

6.2.1.2. Analyses physiologiques

6.2.1.2.1. Mesures des échanges gazeux

Des mesures des échanges gazeux ont été effectuées à midi au cours des troisième et quatrième semaines de Juillet 2011sur *Typha latifolia* à l'aide d'un CIRAS-2 PP Systems équipé de LED et d'une unité de mesure de la fluorescence des chlorophylles montée sur la pince PLC6. Trois plantes ont été retenues sur chacune des placettes localisées dans les 4 bassins du système de lagunage d'Étueffont. Pour chaque plante, le 1/3 supérieur des deuxièmes et troisièmes feuilles pleinement développées (matures) a été retenu pour la mesure. Différents paramètres ont été mesurés : Photosynthèse nette (Pn), conductance stomatique (Gs), concentration de CO₂ interne (Ci), assimilation nette de CO₂ (A), et la transpiration (E). Différents paramètres dont le Vcmax (capacité de carboxylation de la Rubisco) ont été calculés selon le modèle biochimique de l'assimilation du CO2 établi par **Farquhar et al. (1980) et Sharkey (1985)** à partir de ces mesures.

6.2.1.2.1.1. Principes du CIRAS-2 de PP Systems

L'ensemble des mesures a été réalisé à l'aide d'un analyseur intégré de type CIRAS-2 PP Systems (PP Systems International, Inc., 110 Haverhill Road, Suite 301, Amesbury, MA 01913 USA) propriété de l'Université Paris-Est Créteil, iEES Paris, UMR 7618, Département Interaction Plantes-Environnement, Equipe EcoPhys, qui comporte 3 éléments : l'unité centrale permettant les régulations et les mesures, l'interface de commande et la pince avec la chambre de mesure (Parkinson Leaf Chamber ou PLC). La surface de la PLC est ajustable au type de feuille étudié. La surface retenue pour les analyses a été fixée à 2.5 cm².

Les paramètres débit d'air (u), humidité (HR) et concentration en CO_2 à l'entrée de la chambre (Ce), sont contrôlés par l'analyseur. Il ajuste la composition et contrôle le débit de l'air utilisé à l'entrée de la chambre de mesure (pressions de CO_2 et de vapeur d'eau) grâce à un double système de dilution de gaz. De même, il mesure les concentrations en CO_2 et en vapeur d'eau à l'entrée de la chambre grâce à deux analyseurs infrarouge (IRGA) en mode absolu, et enregistre les variations entre l'entrée et la sortie de la PLC (delta de CO_2 et de vapeur d'eau) grâce à ces deux mêmes IRGA mais en mode différentiel.

L'analyseur assure également la régulation de la température de l'air de la PLC ainsi que la température de la feuille au 1/10ème de dégré grâce à un élément Peletier. L'intensité lumineuse ajustable est délivrée par une tête multi-LED pouvant délivrer jusqu'à 2000 μ mol photons m⁻²s⁻¹.

L'interface d'acquisition des données permet une visualisation en temps réel des différents paramètres sous forme graphique et numérique. Ainsi, l'opérateur a accès directement :

- aux paramètres prédéfinis par l'opérateur : surface de feuille (cm²), PAR (μ mol photons m⁻²s⁻¹), CO₂ (ppm) et humidité de l'air de référence (%) et débit du flux d'air de la PLC.

- aux paramètres mesurés par l'analyseur : ΔCO_2 (i.e. différence de concentration entre l'entrée et la sortie de la PLC), ΔH_2O (i.e. différence de pression de vapeur entre l'entrée et la sortie de la PLC), température de la chambre, température de la feuille (en °C, mesurée par capteur IR), PAR (Radiations photosynthétiquement actives) et pression atmosphérique. L'analyseur mesure également la fluorescence du Photosystème 2 (PS2) au cours des mesures.

- aux paramètres calculés selon les équations de Caemmerer et Farquhar : Pn (photosynthèse nette), Ci (concentration interne en CO_2), E (évapotranspiration), Gs (conductance stomatique).

Paramètres fixes	Paramètres mesurés	Paramètres calculés
CO ₂ in (vpm)	Delta CO ₂ in-out	Pn = Assimilation, μ mol.m ⁻² .s ⁻¹ Ci = CO ₂ interne dans la feuille, vpm= 10 ⁻⁶ mol .mol ⁻¹
H ₂ O in (pression de vapeur, Pascals)	Delta H ₂ O out-in Tair chambre Tfeuille	$E = Transpiration, 10^{-3} mol eau.m^{-2}.s^{-1}$ $Gs = Conductance stomatique vapeur d'eau, 10^{-3} mol.m^{-2}.s^{-1}$
Surface feuille 2,5 cm ²	HR % à T _{air chambre}	VPD feuille-air, Pa
Température feuille	Patm= P atmos- phérique, Pascals	Débit air dans chambre cm ³ .s ⁻¹ → mol.s ⁻¹ Fractions molaires vapeur eau = Pvapeur.Patm ⁻¹

Tableau 6.1 : paramètres visualisables sur l'interface d'acquisition

L'analyseur calcule automatique la Transporation foliaire E, la Conductance stomatique Gs, et la Photosynthèse nette Pn.

Les calculs réalisés par le CIRAS2 sont les suivants :

- Transpiration foliaire (exprimée en mmol .m⁻².s⁻¹) : E

Chapitre 6 Les effets des métaux lourds sur les échanges gazeux et la fluorescence des chlorophylles dans *Typha latifolia*

 $E = (\Delta \text{pression de vapeur d'eau (out-in) / Patm)} \times \text{Débit air chambre x 1 / Surface}$ $E = (\Delta \text{pa/Patm}) \times (\text{litres.s}^{-1} / 22.4 \text{ litres.mol}^{-1}) \times (1 / \text{m}^{-2})$ avec la surface S en m2, le débit d'air en mol air.s⁻¹, et Patm en Pascals

Conductance stomatique (exprimée en mmol.m⁻².s⁻¹) : Gs
Gs = VPD feuille – air / Patm / (Rsw + Rbw)
et Rsw = (VPD feuille-air/Patm)/E – Rbw

Photosynthèse nette (exprimée en μmol.m⁻².s⁻¹) : Pn (sur Appareil) ou A
Pn = A = Δ CO₂ (out-in) x Débit/22.4 x 1 / surface
A = gtc (Ca- Ci) et Ci = Ca - A / Gtc avec gtc = 1 / (Rsw x 1.56 + Rbw x 1.37)

6.2.1.2.1.2. Protocoles de mesures Réponse au CO₂

Le protocole de mesure utilisé afin de vérifier les effets du stress sur l'activité photosynthétique de la feuille est celui de la réponse au $CO_2 \Rightarrow$ Pn ou A = f(CO₂) = Courbe A/Ci. Chaque étape des paragraphes suivants est programmée dans l'appareil (durée des différentes étapes, intensités des éclairs, intensité lumineuse, concentrations en CO2...).

Après vérification de l'étalonnage de l'appareil, une feuille est insérée dans la chambre de mesure et laissée 15 à 20 minutes à l'obscurité pour que les accepteurs d'électrons soient tous à l'état oxydé, avant de mesurer la fluorescence maximale et obtenir le ratio de fluorescence Fv/Fmnuit = rendement maximum du Photosystème 2 (PS2).

Cette mesure est suivie d'une phase d'éclairement de la feuille et le programme de mesure prédéfini réalise automatiquement les mesures (Intensité Lumineuse fixée à 1000 μ mol photons m⁻²s⁻¹, CO₂ variable) permettant l'acquisition des valeurs de Pn = f(CO₂) avant d'établir la courbe A/Ci en lumière saturante.

Les paramètres fixés étaient les suivants :

- Débit d'air dans la chambre = 200 ml.min^{-1}
- Variation de la [CO₂] de 0 to 1200 ppm
- Température de l'air fixée à 20°C

- Déficit de vapeur d'eau de 1.6 kPa

Densité du flux de photons (PPF) de 1000 mmol.m⁻².s⁻¹.

6.2.1.2.1.3. Protocole de dosage des chlorophylles totales (Chl *a* et Chl *b*)

Les feuilles utilisées sont rincées à l'eau distillée puis séchées dans du papier absorbant. Des rondelles d'un diamètre de 1.8 cm sont ensuite prélevées à l'aide d'un emporte-pièce dans le limbe en évitant soigneusement les nervures. Chaque rondelle est ensuite broyée dans un mortier avec de l'acétone à 80% (v/v) à l'aide d'un pilon, selon la méthode de **Holden (1965**). Cette étape doit être effectuée dans la glace et à l'obscurité afin de ne pas induire une photodestruction des pigments chlorophylliens. Les concentrations en chlorophylles a et b sont ensuite déterminées par spectrométrie a partir de l'absorbance à deux longueurs d'onde (645 et 663 nm). Les quantités totales de chlorophylles *a* et *b*, exprimées en μ g.ml⁻¹, sont calculées selon la formule de **Lichtenthaller (1987)** basée sur la méthodologie de **Arnon (1949)**:

Chl a (ug.ml⁻¹) = 12, 21 (A₆₆₃) – 2, 81 (A₆₄₅) Chl b = 20, 13 (A₆₄₅) – 5, 03 (A₆₆₃) Chl a + Chl b = 8.02 (A₆₆₃) + 20.20 (A₆₄₅) Caroténoïdes = (1000 (A₄₇₀-3,27 (Chl a) -104 (Chl b))/227 Ces données sont ensuite exprimées en µg cm⁻² de feuille.

6.2.1.2.2. Mesure de la fluorescence de la feuille avec le CIRAS2

Conjointement aux mesures des échanges gazeux, des mesures de fluorescence des chlorophylles ont été réalisées à l'obscurité et pendant les mesures de photosynthèse. Le rapport Fv/Fm, traduisant l'altération de la photochimie par un stress, a été calculé.

La photosynthèse étant un processus de conversion d'énergie solaire par séparation des charges au niveau des centres réactionnels du Photosystème 2, une mesure de l'efficience de la conversion énergétique peut être obtenue à partir de sa fluorescence. Ces mesures déterminent ainsi le flux d'électrons entre le Photosystème 2 (PS2) et le Photosystème 1 (PS1). Au niveau du Photosystème 1, les chlorophylles émettent peu de fluorescence du fait des possibilités de transfert des électrons vers des voies telles que la photorespiration ou la

Chapitre 6 Les effets des métaux lourds sur les échanges gazeux et la fluorescence des chlorophylles dans *Typha latifolia*

détoxication (ASA, Gluthation, réaction de Mehler, réduction de l'ammonium,...). Ces mesures de fluorescence permettent de connaître la fraction des électrons allouée aux processus de détoxication+photorespiration par rapport aux carboxylations (sachant qu'il faut 4 e- pour fixer un CO₂).

Cette relation entre Intensité de la fluorescence et Efficience de conversion de l'énergie au cours de la photosynthèse s'appuie notamment sur la 1ère loi de la thermodynamique : Fluorescence + Photochimie + Dissipation thermique = 1 soit F+P+D = 1. De cette équation à 3 inconnues, 2 sont obtenues par mesures (fluorescence et chaleur), nous permettant ainsi de déduire la photochimie.

6.2.1.2.2.1. Principe

L'énergie reçue par une feuille se répartit en 3 termes, **Photochimie** (P) (et donc métabolisme), **Chaleur** (dissipation de l'énergie reçue H = Heat) et **Fluorescence** (F, dissipation sous forme de rayonnement visible et IR) : **E reçue = P + H + F**

Selon l'état de la feuille, la part relative des 3 composantes varie. En cas de sécheresse sévère, P tend vers 0 et la dissipation a lieu sous forme de rayonnement R et proche IR (fluorescence) et thermique (IR de grande longueur d'onde).

Rappels

Le processus de photosynthèse peut se décomposer en plusieurs étapes:

- Absorption de la lumière et transfert d'énergie par les pigments des antennes collectrices ;

- Réactions lumineuses primaires (Conversion de l'énergie photochimique) ;

- Transport des électrons via les transporteurs contenus dans la membrane thylacoïdale et synthèse de pouvoir réducteur (NADP réduit) ;

- Transport couplé de protons et synthèse d'ATP ;

Réactions enzymatiques associées à l'assimilation du CO₂ dans le stroma (Réactions 'sombres');

Les chlorophylles *a*, *b* sont les pigments essentiels des antennes et quelques molécules de Chl *a* sont associées aux protéines des centres réactionnels et directement impliquées dans la conversion de l'énergie (P700 dans le photosystème I et P680 dans le photosystème II). Les niveaux d'excitation de la chlorophylle peuvent conduire à la conversion d'énergie, à une émission de fluorescence (dissipation radiative) ou enfin la dissipation sous forme de chaleur (dissipation non radiative).

En résumé :

-1) *in vivo*, la fluorescence provient presque exclusivement de la chlorophylle localisée dans le PSII (incluant les pigments des antennes). Ainsi la fluorescence *in vivo* donne immédiatement une information sur l'utilisation et la dissipation de l'énergie dans le seul PSII.
- 2) La translocation de protons, générant une différence de potentiel électrochimique du proton de part et d'autre de la membrane énergétique est essentielle pour la synthèse de l'ATP.

Le principe de la méthode de mesure de la fluorescence consiste en l'application de plusieurs éclairs de lumière saturante qui provoquent, au niveau du PSII, la saturation du processus de conversion de l'énergie photochimique en e- (pouvoir réducteur).

La conversion de l'énergie lumineuse (E = h.c/ λ) par le PSII nécessite une séparation de charges. Cette séparation a lieu lorsqu'une chlorophylle excitée du centre réactionnel du PSII quitte son état (état singulet) en cédant un électron à un premier accepteur Phéo (=Phéophytine : Chlorophylle dépourvue du cation Mg²⁺). Ce premier accepteur va ensuite céder son électron aux Quinones Qa puis Qb et enfin aux Plastoquinones (PQ). Or les accepteurs ont une base de temps longue par rapport aux temps de désexcitation des donneurs (transitions excité/fondamental des chlorophylles de 10⁻⁶ s contre 10⁻¹ s pour les Quinones a). Ainsi, de par l'application d'éclairs saturants, la capacité du PSII à céder des e- et donc à transmettre l'énergie captée est ramenée à 0 (i.e. rendement quantique du PSII = 0), de manière transitoire. Le PSII a alors que deux options pour dissiper l'énergie : la fluorescence et la dissipation de l'énergie non radiative, qui atteignent leur valeur maximale.

On peut ainsi résumer le principe en quelques équations simples :

(1) **F**+**P**+**H** =1 (Fluorescence + Photochimie + Dissipation thermique =1)

(2) Avec un éclair de lumière saturante, P=0, F = Fm, H = Hm, et donc Hm = 1- Fm. (indice m = max)

(3) En considérant que le ratio H/F ne change pas pendant le pulse,

H/F = Hm/Fm = (1-Fm)/Fm et H = F (1-Fm)/Fm

(4) le rendement quantique du PSII = P = 1- F - H = 1 - F - F (1-Fm)/Fm = (Fm-F)/Fm = Δ F/Fm

Ft et Fm représentent à un moment donné les rendements de fluorescence et de fluorescence maximale induite par le éclair saturant. Etant donné que la valeur obtenue est un rapport, les paramètres optiques et techniques du système de mesure n'entrent pas en ligne de compte.



Figure 6.1: Vue schématique de la conversion d'énergie primaire et le transport d'électrons primaires dans la photosynthèse. LHC (lumière récolte de complexe pigment-protéine) ; Phéo, (phéophytine) ; DCMU, inhibiteur de PSII (diuron); PQ, plastoquinone; PC, plastocyanin.

Schéma de la conversion de l'énergie primaire et du transport d'électrons dans la membrane thylacoïdale (Doc. Walz)

6.3.1.2.2.2 Protocoles de mesure

L'appareil utilise 3 sources lumineuses :

-lumière modulée (ML), fixée par le constructeur, très faible (0.1 μ mol photons m⁻².s⁻¹) et en alternance avec la mesure de fluorescence

-la lumière actinique (AL), d'intensité modulée, jaune ou rouge, qui permet d'activer le PS

-la lumière saturante (SP= saturating pulse = éclair d'1/10 s de forte intensité (35000 à 10

000 μ mol photons m⁻².s⁻¹ ie 2 à 5 fois le soleil à 12h GMT)

Après mise à l'obscurité de la feuille (indispensable 20 minutes) :

L'appareil mesure une émission de fluorescence résiduelle (Zéro). On allume alors la lumière modulée (0.01 µmol photons m⁻² .s⁻¹) pour mesurer Fo. Ensuite, un éclair saturant (3000 à 10000 µmol photons m⁻² .s⁻¹) permet de saturer le PS2 qui, ne pouvant plus transmettre d'électrons vers la chaîne redox (Qa, Qb) doit dissiper cette énergie captée et la réémet (Fluorescence max = Fm). On établit donc le rapport **Fv/Fm = (Fm-Fo)/Fm** qui fournit une mesure d'état de l'appareil photosynthétique : pour les témoins Fv/Fm=0.81-0.83 ; il peut tomber en dessous de 0.8 en cas de stress.

Lorsque la feuille est éclairée :

Après le premier éclair, **la lumière actinique (AL) est allumée**. C'est le point de départ de la photosynthèse avec l'activation de la photochimie pour réduire le CO2 via l'ATP généré par la différence de potentiel électrochimique du proton de part et d'autre de la membrane thylacoïdale de proton de part et d'autre de la membrane thylacoïdale et la production de pouvoir réducteur (NADPH) par le transport acyclique des électrons.

On a alors $\mathbf{F}+\mathbf{P}+\mathbf{H}=\mathbf{1}$ (Fluorescence + Photochimie + Dissipation thermique = 1) On fixe via l'intensité de la lumière actinique Rouge l'intensité de PS et l'appareil va émettre à une fréquence déterminée par l'opérateur des éclair saturants (3000 à 10000 µmol.m⁻².s⁻¹) qui permettent de saturer le PS2. Ne pouvant plus transmettre d'électrons vers la chaîne redox l'énergie est réémise sous forme radiative (Thermique et Fluorescence = F'm). Entre les éclairs la feuille dissipe sous forme de fluorescence = $\mathbf{F}' = \mathbf{fluo stable}$.

On établit alors :

- le rapport Fv/F'm = (F'm-Fo)/F'm = φPS2 = le rendement quantique (QY = quantum yield) du PS2 à la lumière càd le rendement d'utilisation de la lumière par le PS2 ; ce terme permet de calculer le flux d'électrons entre le PS2 et le PS1 (ETR = electron transport rate)
- le rapport (F'm-F')/(F'm-Fo) = Quenching Photochimique = qP = l'extinction de fluorescence liée au métabolisme photosynthétique utilisant le NADP réduit

Chapitre 6 Les effets des métaux lourds sur les échanges gazeux et la fluorescence des chlorophylles dans *Typha latifolia*

- le rapport (Fm- F'm)/(F'm-Fo) = Quenching Non Photochimique = qN (= qNP) = la dissipation thermique sous forme de chaleur

⇒Ces valeurs permettent de calculer le flux d'e- entre le PS2 et le PS1 et la part

photorespiration + détoxication à partir du flux de photons (PPFD, µmol photons m⁻².s⁻¹), de l'albedo de la feuille et du φ PS2 par la formule ETR= µmol e-.m⁻².s⁻¹ = ½. (1-a). PPFD. φ PS2.

En général a = 0.18 cad que 82% de l'énergie reçue par la feuille en moyenne sont absorbés.

⇒Sachant qu'un CO2 fixé nécessite 2 NADPH et 3 ATP càd 4 e-, le flux d'e-/4 = part des carboxylations (Pn). La différence Flux d'e- total – 4.Pn = photorespiration + détoxication.

Rappels

φ PS2 = QY = Rendement quantique PS2, 2 types -φ PS2max = après obscurité = (Fm-Fo)/Fm -φ PS2lumière = (F'm-Fo)/F'm

Quenching Photochimique avec LA= qP = (F'm-F')/(F'm-Fo) Quenching Non Photochimique = qN =(Fm- F'm)/(F'm-Fo)

REM : Autre forme du Quenching non Photochimique = NPQ = (F'm-F')/F'm qui prend en compte la dissipation thermique dans les antennes => indicateur de l'excès d'énergie

Chapitre 6 Les effets des métaux lourds sur les échanges gazeux et la fluorescence des chlorophylles dans *Typha latifolia*



6.3 Résultats

6.3.1 Analyse des métaux lourds et métalloïdes

6.3.1.1 Contaminations potentielles du sédiment par les métaux lourds

A l'exception de Cu, les plus fortes concentrations des éléments étudiés ont été observées, au printemps et en été, dans le premier bassin du système de lagunage d'Étueffont (sauf pour Cd en été) ; les plus basses ont été généralement observées sur le point de contrôle (ruisseau Gros Prés) ou à l'exutoire du système de lagunage (Sortie du bassin 4). Les concentrations les plus élevées de métaux dans le sédiment ont été trouvées pour Mn à l'entrée du premier lagune en été avec 4202±386,4 mg/kg DW. Quelle que soit la saison et le lieu d'échantillonnage, les concentrations de métaux les plus faibles ont été enregistrées pour Cd avec moins de 3 mg/kg DW.

Pour tous les éléments retenus, des différences significatives dans les concentrations mesurées ont été enregistrées entre les points d'échantillonnage (entre les 4 bassins) avec une

décroissance de ces dernières depuis l'entrée vers la sortie du système.

En revanche, des variations significatives entre les deux périodes d'échantillonnage n'ont été observées que pour Cd et Zn.

Dans les racines de *Typha*, les concentrations moyennes de métaux et de métalloïdes dans les quatre bassins peuvent être classées comme suit: Mn > Zn > As > Cu > Cr > Ni > Cd pour les deux périodes d'échantillonnage.

Tableau 6.2 : Concentrations (mg . kg⁻¹ DW)des métaux et métalloïdes dans le sédiment des 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont.

Sédiment		As	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Zn
Printemps	Lagune1 entrée	229,5±20,65	2,74±0,19	105,8±10,59	120,8±48,18	3906±330,1	43,28±4,56	674,4±40,64
	Lagune1 sortie	120,2±17,09	2,9±0,23	90,9±8,01	147,3±40,02	3641±372,8	53,38±5,27	546±31,59
	Lagune2 sortie	44,77±4,36	2,38±0,17	80,69±6,54	175,8±34,46	3503±268,1	49,58±5,05	470,2±31,05
	Lagune3 sortie	30,65±3,08	1,83±0,15	73,36±12,86	145,9±30,83	3192±272,6	45,6±5,6	409,3±33,15
	Lagune4 sortie	19,73±1,91	1,15±0,19	59,16±8,68	104,3±16,46	3000±296,8	40,35±7,36	227,8±21,18
	Contrôle	18,43±1,7	1,09±0,14	53,15±7,69	96,27±14,08	2901±316,3	37,3±5,48	221,7±18,17
Eté	Lagune1 entrée	302,8±24,14	2,32±1,05	107,21±12,19	151,8±42,03	4202±386,4	48,79±11,26	816,5±51,28
	Lagune1 sortie	62,7±10,21	2,12±0,78	83,63±9,97	162,7±36,96	3879±367,6	58±12,18	634,7±52,63
	Lagune2 sortie	48,23±7,09	2,62±0,71	67,57±17,55	254,3±63,54	3767±295,1	50,78±5,09	439,4±50,01
	Lagune3 sortie	24,79±4,36	1±0,04	61,08±5,47	141,4±21,5	3249±248,3	46,48±4,94	242,7±38,12
	Lagune4 sortie	20,22±1,43	0,85±0,03	53,03±3,03	73,82±3,5	2880±268,9	37,33±2,74	80,8±25,44
	Contrôle	19,12±1,64	0,93±0,12	47,02±2,72	69,62±3,62	2789±284	39,83±2,51	85,2±17,23
	Saison	0.8 ns	12.7 ***	1.7 ns	1.7 ns	2.00 ns	1.6 ns	23.8 ***
	Site	874.3 ***	34.7 ***	23.7 ***	23.7 ***	28.7 ***	11.9 ***	520.1 ***
	Saison*Si	41.3 ***	2.4 *	4.2 **	1.1 ns	1.1 ns	0.6 ns	39.5 ***
6.3.1.2. Stockage des métaux et métalloïdes dans les macrophytes et relations avec le sédiment

Les concentrations mesurées chez *T. latifolia* pendant les deux périodes d'échantillonnage (printemps et été) sont présentées dans les Tableau 6.2 et Tableau 6.3. Dans la plupart des cas, les concentrations étaient significativement plus élevées dans les parties racinaires (racines et rhizomes) que dans les parties aériennes de la plante (feuilles et tiges) de *T. latifolia* en croissance dans les 4 bassins du système de lagunage.

6.3.1.2.1. Les parties souterraines de la plante

Les concentrations en métaux lourds et métalloïdes dans les racines et rhizomes déterminées pour les plants de *T. latifolia* dans les quatre étangs (et le contrôle) sont résumées dans le Tableau 6.3.

Pour l'ensemble des éléments étudiés, des différences significatives dans les concentrations en métaux et métalloïdes entre les stations d'échantillonnage et pour les deux périodes d'échantillonnage ont été enregistrées pour les racines (p <0,001). Les concentrations les plus élevées de métaux lourds dans *T. latifolia* ont été trouvées pour Mn dans les racines à proximité de l'entrée du premier bassin au printemps avec 11805±479.6 mg / kg DW. Quelle que soit la saison et la station d'échantillonnage, les concentrations en métaux les plus faibles ont été enregistrées pour Cd dans les racines avec moins de 3 mg / kg MS. Dans les racines de *Typha*, les concentrations moyennes de métaux et métalloïdes dans les quatre étangs peuvent être classées comme suit: Mn > As > Zn > Cr > Cu > Ni > Cd pour les deux périodes d'échantillonnage.

•	Tableau 6.3 : Concentrations (mg . kg	DW) des métaux et métalloïdes dans les parties souterraine	S
1	(BG) de T. latifolia prélevées dans les 4	bassins du système de lagunage d'Etueffont.	

BG		As	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Zn
Printemps	Lagune1 entrée	517±22.7	2.3±0.4	73.9±9.2	45.9±0.9	11805±479.6	46.7±6.4	246.4±10.7
	Lagune1 sortie	323.6±15.8	1.5±0.2	66.7±4.4	41.1±0.6	10649±258.1	39.1±4.7	198.6±27.8
	Lagune2 sortie	166.2±10.5	1.1±0.3	57.8±3.6	43.8±3.9	10457±100.4	34.8±1.3	177.2±9.2
	Lagune3 sortie	113.5±7.3	0.8±0.1	50.7±7.1	40.8±4.3	9815±179.1	32.9±1.8	115.6±6.5
	Lagune4 sortie	61.9±4.7	0.6±0.1	17.8±2.1	33.8±4.2	9375±1096.5	26.9±4.3	76.4±6.4
	Contrôle	66.6±6.1	0.6±0.1	17.6±1.3	34.1±2	9182±910.4	25.4±3.7	74.1±5.8
Eté	Lagune1 entrée	430±13,2	1.8±0.3	56.2±7.9	35.2±0.8	8701±382.7	34.6±5.9	188.8±18.5
	Lagune1 entrée sortie	263,7±10,3	1.1±0.2	47.3±3.5	29.7±1	7605±421.2	28.1±3.5	144.8±21.2
	Lagune2 sortie	199±10,6	0.9±0.3	45.1±4.1	34.7±3.6	8004±437.8	27.1±1.3	137.2±7.7
	Lagune3 sortie	162±6,3	0.7±0.1	39.7±6.9	32.2±4.4	7435±295.1	25.6±2.3	87.7±6.8
	Lagune4 sortie	105,5±3,7	0.6±0.1	16.0±1.2	31.7±2.6	8192±738.3	23.7±3.7	67.4±5.1
	Contrôle	57.5±3.2	0.6 ± 0.1	16.2±1.5	33.3±1.6	7973±715.2	24.8±3.6	69.8±3.6
	Saison	313.2 ***	214.1 ***	251.2 ***	20.7 ***	45.8 ***	59.0 ***	443.1 ***
	Site	695.8 ***	33.7 ***	87.9 ***	8.9 ***	5.2 ***	11.5 ***	77.5 ***
	Saison*Site	16.4 ***	13.7 ***	20.4 ***	14.2 ***	24.9 ***	9.8 ***	20.2 ***

6.3.1.2.2 Parties aériennes de plantes : tiges et feuilles.

Les concentrations en métaux lourds et métalloïdes dans les tiges et les feuilles déterminées pour les plants de *T. latifolia* dans les quatre étangs (et le contrôle) sont résumées dans le Tableau 6.4.

Comme pour les racines et les rhizomes, les concentrations en métaux lourds dans les parties aériennes de la plante ont été maximales au printemps à la fin de la période active de croissance des macrophytes, alors qu'une baisse a globalement été observée pour le prélèvement estival. En revanche, pour As, Cd et Cr, les concentrations sont restées en dessous des limites de détection (LOD), quelle que soit la saison de prélèvement. À l'exception de ces trois éléments, l'accumulation des métaux lourds dans les parties aériennes de *T. latifolia* (tiges et feuilles) présente d'importantes variations saisonnières similaires à celles observées dans les parties souterraines des macrophytes en croissance dans les quatre bassins d'Etueffont. Des différences significatives entre les points de prélèvement dans les quatre lagunes, ainsi que entre les deux saisons d'échantillonnage ont été enregistrées pour l'ensemble des éléments étudiés (à l'exception de As, Cd et Cr : LOD).

Les concentrations les plus élevées ont été enregistrées pour Mn dans les parties aériennes de *T. latifolia* à l'entrée du bassin 1 au printemps avec $3365\pm108.9 \text{ mg} / \text{kg}$ DW. La tendance de variation des concentrations en métaux lourds dans les parties aériennes était la suivante : Mn > Zn > Cu > Ni pour les deux périodes d'échantillonnage (As, Cd et Cr étant en dessous des seuils de détection).

Tableau 6.4 : Concentrations (mg . kg ⁻¹ DW) des métaux et métalloïdes dans les parties aérienne	5
(AG) de <i>T. latifolia</i> prélevés dans les 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont.	

AG		As	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Zn
Printemps	Lagune1 entrée	<1.5	<0.5	<1	4.0±0.3	3365±10 8.9	1.5±0.1	36.6±5.8
	Lagune1 sortie	<1.5	<0.5	<1	2.8±0.3	2540±10 9.9	1.4±0.1	13.7±1.6
	Lagune2 sortie	<1.5	<0.5	<1	2.7±0.8	2451±38	1.3±0.1	7.7±0.6
	Lagune3 sortie	<1.5	<0.5	<1	2.1±0.5	2061±33 .9	<1	5.5±0.5
	Lagune4 sortie	<1.5	<0.5	<1	3.4±0.5	1720±13 1.7	<1	5.3±0.4
	Contrôle	<1.5	<0.5	<1	3.5±0.3	1703±12 9	<1	5.2±0.4
Eté	Lagune1 entrée	<1.5	<0.5	<1	3.0±0.3	2570±11 2	1.2±0.1	28.2±5.6
	Lagune1 sortie	<1.5	<0.5	<1	2.0±0.2	1839±87 .5	0.9±0.1	9.8±1.3
	Lagune2 sortie	<1.5	<0.5	<1	2.3±0.4	1921±12 6.7	1.1±0.1	6.1±0.4
	Lagune3 sortie	<1.5	<0.5	<1	1.7±0.5	1597±76 .5	0.8±0.1	4.3±0.3
	Lagune4 sortie	<1.5	<0.5	<1	3.0±0.3	1543±91 .3	<1	4.9±0.4
	Contrôle	<1.5	<0.5	<1	3.0±0.3	1504±94 .2	<1	5.2±0.5
	Saison	/	/	/	17.6 ***	271.7 ***	128.2 ***	356.3 ***
	Site	/	/	/	8.4 ***	100.4 ***	25.6 ***	74.7 ***
	Season*Site	/	/	/	19.1 ***	18.3 ***	24.9 ***	65.7 ***

6.3.1.2.3. Le coefficient d'enrichissement pour les parties racinaires des macrophytes (EC_BG)

Les coefficients moyens d'enrichissement pour les racines et rhizomes calculés pour les plants de *T. latifolia* dans les quatre lagunes et le contrôle (ruisseau Gros pré) sont résumés dans le Tableau 6.5.

La moyenne calculée EC_BG (Tableau 6.5) varie de 0,21 à 8,44 au printemps et de 0,13 à 6,67 en été. Les valeurs les plus élevées d'EC_BG mesurées étaient pour As et Mn au printemps à la sortie de la quatrième lagune $(8,44\pm0,06$ et $3,5\pm0,2$ respectivement).

À l'exception de As et de Mn (et Ni au printemps à l'entrée de la première lagune), les

EC_BG de *T. latifolia* étaient < 1,0 pour l'ensemble des métaux et métalloïdes étudiés, quel que soit le bassin ou la période d'échantillonnage (Tableau 6.1). Les valeurs moyennes d'EC des éléments décroissent dans l'ordre suivant: Zn < Cu < Cr < Cd < Ni < Mn < As.

	/	0.00						
		EC-BG	EC-BG	EC-BG	EC-BG	EC-BG	EC-BG	EC-BG
		As	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Zn
Printemps	Lagune1 entrée	2,26±0,04	0,83±0,09	0,7±0,03	0,43±0,17	3,03±0,04	1,08±0,05	0,37±0,01
	Lagune1 sortie	3,3±0,2	0,61±0,06	0,62±0,05	0,25±0,06	2,4±0,1	0,65±0,06	0,34±0,02
	Lagune2 sortie	7,25±0,15	0,63±0,05	0,83±0,01	0,24±0,04	3,04±0,06	0,79±0,03	0,42±0,04
	Lagune3 sortie	7,54±0,26	0,62±0,04	0,65±0,06	0,21±0,04	2,39±0,11	0,62±0,03	0,35±0,03
	Lagune4 sortie	8,44±0,06	0,95±0,11	0,98±0,06	0,42±0,02	3,5±0,2	0,88±0,1	0,78±0,01
	Contrôle	3,61±0,09	$0,58\pm0,03$	$0,33\pm0,02$	$0,36\pm0,02$	$3,17\pm0,04$	$0,69\pm0,04$	0,33±0,01
Eté	Lagune1 entrée	1,42±0,08	0,42±0,08	0,42±0,03	0,24±0,04	1,91±0,1	0,57±0,1	0,17±0,01
	Lagune1 sortie	4,28±0,54	0,4±0,12	0,61±0,02	0,26±0,03	2,54±0,11	0,58±0,08	0,18±0
	Lagune2 sortie	4,18±0,4	0,27±0,05	0,6±0,05	0,13±0,01	1,97±0,02	0,51±0,01	0,2±0
	Lagune3 sortie	6,67±0,94	0,6±0,09	0,29±0,01	0,24±0	2,88±0,18	0,58±0,04	0,32±0,02
	Lagune4 sortie	5,23±0,19	0,67±0,06	0,3±0,02	0,43±0,03	2,85±0,07	0,63±0,06	0,89±0,21
	Contrôle	3,02±0,26	0,62±0,11	0,34±0,02	0,48±0,02	2,86±0,1	$0,62\pm0,06$	$0,84\pm0,11$
	Saison	218.5 ***	122.6 ***	939.3 ***	2.9 ns	274.7 ***	185.3 ***	0.00 ns
	Site	403.9 ***	29.1 ***	168.5 ***	38.5 ***	98.4 ***	24.7 ***	127.9 ***
	Saison*Site	58.3 ***	15.9 ***	153.6 ***	11.3 ***	111.0 ***	25.4 ***	46.4 ***

Tableau 6.5 : Coefficients d'enrichissement (EC) des parties souterraines de *T. latifolia* prélevés dans les 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont.

6.3.1.2.4. Le coefficient d'enrichissement pour les parties aériennes des macrophytes (EC_AG)

Les coefficients moyens d'enrichissement pour les tiges et les feuilles calculés pour les plants de *T. latifolia* dans les quatre lagunes (et le contrôle) sont résumés dans le Tableau 6.6.

L'EC_AG varie de 0,00 à 0,86±0,02, et de 0,00 à 0,59±0,04 respectivement au printemps et en été (Tableau 6.6).

Pour Mn, les valeurs EC_AG les plus élevées ont été enregistrées à l'entrée du premier bassin

au printemps et en été. Les concentrations des éléments As, Cd et Cr dans les parties aériennes étant restées en deçà des seuils de détection pour les deux périodes d'échantillonnage, aucune valeur d'EC n'a pu être calculée pour ces derniers.

Exception faite du Mn, les coefficients d'enrichissement de tous les éléments étudiés étaient très inférieurs à 1.

Ainsi, la diminution moyenne des valeurs EC_AG était la suivante: Cu-Ni < Zn < Mn.

	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·				
		EC_AG_Cu	EC_AG_Mn	EC_AG_Ni	EC_AG_Zn
Printemps	Lagune1 entrée	$0,04{\pm}0,01$	$0,86\pm0,02$	0,03±0,01	$0,05\pm0,01$
	Lagune1 sortie	0,02±0,01	0,71±0,02	0,02±0	0,05±0,01
	Lagune2 sortie	$0,02\pm0,01$	0,73±0,01	0,03±0	0,03±0
	Lagune3 sortie	0,01±0,01	$0,58\pm0,02$	0,02±0	0,02±0,01
	Lagune4 sortie	0,03±0,01	$0,82\pm0,04$	0,03±0	0,03±0
	Contrôle	$0,04{\pm}0,01$	0,59±0,04	0,03±0	0,02±0
Eté	Lagune1 entrée	$0,02\pm0,01$	$0,59{\pm}0,04$	$0,02\pm0,01$	0,01±0
	Lagune1 entrée sortie	0,01±0	0,53±0,02	$0,02\pm0,01$	0,01±0
	Lagune2 sortie	0,01±0	$0,42\pm0,01$	$0,01\pm0,01$	0,01±0
	Lagune3 sortie	0,02±0	0,53±0,02	0,02±0	0,02±0
	Lagune4 sortie	0,04±0	$0,54{\pm}0,03$	0,02±0	0,06±0,01
	Contrôle	$0,04{\pm}0,01$	0,54±0,03	0,02±0	0,06±0,01
	Saison	3.6 ns	834.7 ***	35.7 ***	15.6 ***
	Site	56.0 ***	65.6 ***	21.1 ***	46.8 ***
	Saison*Site	21.1 ***	53.2 ***	8.3 ***	139.7 ***

Tableau 6.6 : Coefficients d'enrichissement (EC) des parties aériennes de *T. latifolia* prélevés dans les 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont.

6.3.1.2.5. Les facteurs de transfert (TLF)

Le facteur de transfert a été utilisé afin de déterminer, pour les deux périodes d'échantillonnage, la capacité de *T. latifolia* pour transférer des métaux lourds et métalloïdes à partir des parties souterraines de la plantes vers les parties aériennes de celle-ci (TLF) dans les conditions spécifiques qui existent dans les quatre bassins interconnectés du système de lagunage Etueffont.

Les TLFs calculés pour les plants de *T. latifolia* dans les quatre lagunes (et le contrôle) sont résumés dans le Tableau 6.7.

Chapitre 6 Les effets des métaux lourds sur les échanges gazeux et la fluorescence des chlorophylles dans *Typha latifolia*

Le TLF moyen pour *T. latifolia* varie de 0,00 et 0,29 et de 0,00 à 0,24 respectivement au printemps et en été. Pour Mn, les valeurs de TLF les plus élevées ont été observées à l'entrée du premier bassin au printemps et en été. Pour les autres éléments, les valeurs de TLF sont très faibles. Aussi, la capacité d'exclusion de *T. latifolia* évaluée d'après le TLF est la suivante : Ni < Zn < Cu < Mn (Non évalué pour As, Cd et Cr qui étaient inférieurs aux seuils de détection).

Tableau 6.7 : Coefficients de transfert (TLF) des parties souterraines vers les parties aériennes de *T. latifolia* prélevées dans les 4 bassins du système de lagunage d'Etueffont.

		TLF_Cu	TLF_Mn	TLF_Ni	TLF_Zn
Printemps	Lagune1 entrée	$0,09\pm0,01$	$0,29\pm0,01$	0,03±0	$0,15\pm0,01$
	Lagune1 sortie	$0,09\pm0,01$	$0,29\pm0,01$	0,03±0,01	$0,15\pm0,01$
	Lagune2 sortie	$0,07{\pm}0,01$	$0,24\pm0,01$	$0,04{\pm}0,01$	$0,07\pm0$
	Lagune3 sortie	$0,07{\pm}0,01$	$0,24{\pm}0,01$	0,03±0,01	$0,07\pm0$
	Lagune4 sortie	$0,06\pm0,01$	0,23±0,01	0,04±0	$0,04{\pm}0$
	Contrôle	0,1±0,01	$0,18\pm0,01$	$0,04{\pm}0,01$	$0,07\pm0$
Eté	Lagune1 entrée	$0,06\pm0,01$	$0,24{\pm}0,01$	$0,04{\pm}0,01$	$0,04{\pm}0$
	Lagune1 sortie	$0,05\pm0,01$	0,21±0	0,03±0	0,05±0
	Lagune2 sortie	$0,05\pm 0,01$	0,21±0,01	0,03±0	0,05±0
	Lagune3 sortie	0,1±0	$0,18\pm0,01$	$0,04\pm0,01$	$0,07\pm0$
	Lagune4 sortie	$0,09\pm0,01$	$0,19\pm0,02$	$0,04{\pm}0,01$	$0,07\pm0$
	Contrôle	$0,09\pm0,01$	0,19±0,01	$0,04\pm0,01$	$0,08\pm0,01$
	Saison	5.3 *	293.9 ***	7.8 **	522.7 ***
	Site	58.6 ***	264.7 ***	10.1 ***	110.4 ***
	Saison*Site	70.2 ***	67.4 ***	8.6 ***	292.7 ***

6.3.2 Mesures physiologiques

6.3.2.1. Paramètres de croissance des plants

Si les plantes ne présentaient pas de symptômes de phytotoxicité visibles, des différences significatives ont été observées entre les caractéristiques morphologiques des *Typha latifolia* en croissance au sein des quatre bassins de la lagune d'Étueffont. Les différences les plus marquées étaient notamment observables entre l'entrée du premier bassin et l'exutoire du système (sortie du bassin 4) (Tableau 6.8).

La toxicité des métaux lourds présents a été observée à travers son influence sur certaines caractéristiques morphologiques telles que la biomasse aérienne (AG) et racinaire (BG), la

hauteur de la tige (cm), la longueur et la largeur des feuilles (cm) et des massettes (g). Les données ont ainsi montrés des résultats similaires en termes de caractéristiques morphologiques pour les plants de *Typha latifolia* échantillonnés au printemps et en été.

Ainsi, des variations de la biomasse sèche des parties aériennes AG et racinaires BG ont été observées entre les sites d'échantillonnage en fonction des concentrations en métaux lourds mesurées dans le sédiment et l'eau. Cependant, une réduction significative de ces biomasses n'a été observée que pour les plants échantillonnés à l'entrée du système (comparativement à l'exutoire du système et au contrôle), au cours des deux saisons étudiées.

Des tendances similaires ont été observées pour d'autres paramètres étudiés. Ainsi, la présence de métaux lourds dans le sédiment et l'eau a également induit une diminution significative de la hauteur de la tige uniquement chez les plants croissants à l'entrée du premier bassin du système lagunaire d'Étueffont. De même, une réduction significative de la longueur maximale des feuilles des plants en croissance sur les sites les plus contaminés a été constatée (bassin 1), sans effet significatif sur la largeur de ces dernières.

En outre, la présence de métaux lourds affecte de manière significative le développement des massettes. Ainsi, les plants en croissance dans le premier bassin présentaient de plus petites inflorescences que les autres plants étudiés.

Tableau 6.8 : Caractéristiques mo	rphologiques des	Typha	latifolia	en	croissance	au	sein	des	quatre
bassins de la lagune d'Etueffont.									

		Total AG	Total BG	Leaf Stem	Spike	Stem Height
		DIOIIIass/Shoot	DIOIIIass/Shoot	(g)	(g)	(cm)
lagune 4 aval	été	29,4±7,3	31,5±6,8	22,6±6,5	6,8±1	133,5±18,5
lagune 3 aval	été	26,6±6,2	32,8±7,4	20,9±5,2	5,8±1,3	121,5±19,5
lagune 2 aval	été	25,6±8,8	29,2±7,2	19,6±6,8	6±2,1	117,8±20,2
lagune 1 aval	été	22,2±8	26,2±8,3	17,1±5,2	5,7±2	109±18,3
lagune 1 amount	été	17,1±4,6	20,7±4,4	14,9±4,2	4,2±0,6	88,1±10,9
contrôle		28,5±6,9	31,8±7,3	21,8±5,9	6,4±1,2	141,1±17,1
lagune 4 aval	printemps	15,9±3,2	24,6±6,2	11,9±2,6	4±0,6	98,7±10,5
Lagune 3 aval	printemps	14,6±2,7	21±4,8	11,2±2	3,3±0,8	94,3±9,2
lagune 2 aval	printemps	14±3,3	20,8±6,9	10,9±2,7	3±0,6	88,1±10,3
lagune 1 aval	printemps	12,3±3,7	18,6±7,1	9,7±3	2,7±0,7	78,4±9,7
lagune 1 entrée	printemps	9,8±1,8	13,9±2,1	7,5±1,6	2,3±0,4	68,4±9,1
contrôle		15,2±2,9	22,5±5	11,3±2,4	3,5±0,6	96,8±9,8
ANOVA (P)	Season	76.9 ***	31.9 ***	76.4 ***	99.7 ***	84.9 ***
	lagune	4.7 **	4.9 ***	3.2 *	4.9 ***	13.5 ***
	Season x lagune	0.6 ns	0,3 ns	0.3 ns	0.5 ns	0.9 ns

6.3.2.2. Analyse des pigments

Un effet concentration – dépendant des métaux lourds sur les chlorophylles a été observé chez les plants de *Typha latifolia* en croissance dans les quatre bassins du système de lagunage d'Étueffont (Tableau 6.9).

Ainsi, au printemps et en été, les concentrations en chlorophylle a et b mesurées dans les feuilles de *Typha latifolia* en croissance dans le premier bassin sont significativement réduites (Printemps : Chl a : 28,8%, Chl b : 15,4% ; été : Chl a : 29,3%, Chl b : 16,7%) par rapport à

celles observées pour les plants en croissance dans le quatrième bassin ou dans le contrôle (ruisseau Gros Prés).

Les fortes concentrations en métaux lourds observées dans le premier bassin conduisent également à une diminution significative des chlorophylles totales (25,8% et 26,2% au printemps et en été respectivement) et du rapport Chl a / Chl b (15,2% et 6,9% au printemps et en été respectivement) (Tableau 6.9). Une diminution similaire de l'ordre de 8% a été observée pour les concentrations de caroténoïdes dans les échantillons de feuilles collectées dans le premier bassin du système.

Tableau 6.9 : Variations des concentrations (mg.g⁻¹) en pigments photosynthétiques des *Typha latifolia* en croissance au sein des quatre bassins de la lagune d'Étueffont.

	Saison	Chl a	Chl b	Chl Total	Chl Ratio	Carotenoid
lagune 1 Entrée	Printemps	543,7±13,8	197,7±8,1	741,3±21,5	2,8±0,1	382,8±8,6
lagune 1 Sortie	Printemps	609,5±16	215±6,4	824,5±19	2,8±0,1	392,8±9,8
lagune 2 Sortie	Printemps	763,7±16,4	226,7±4,8	990,3±18,7	3,4±0,1	417,2±9,4
lagune 3 Sortie	Printemps	817±17,5	239,5±5,2	1056,5±18,6	3,4±0,1	423,7±10,4
lagune 4 Sortie	Printemps	726,2±19,7	228,3±7,1	954,5±23,9	3,2±0,1	412,8±9,3
Contrôle	Printemps	764,1±14,7	233,7±8,4	997,8±20,4	3,3±0,1	417,6±9,5
lagune 1 Entrée	Eté	545,8±17,7	200,8±11,7	746,7±29,2	2,7±0,1	387,6±10,2
lagune 1 Sortie	Eté	621,3±16,3	226,8±7,4	848,2±20,3	2,7±0,1	403,8±9,4
lagune 2 Sortie	Eté	774,5±18,9	237,5±7,8	1012±24,6	3,3±0,1	416,4±9,6
lagune 3 Sortie	Eté	822,5±22	245±9	1067,5±28,4	3,4±0,1	422,8±8,6
lagune 4 Sortie	Eté	739,8±17,2	242±8,7	981,8±20,8	3,1±0,1	421,6±9,1
Contrôle	Eté	771,5±15,4	241±10,4	1012,4±23,1	2,9±0,1	424,3±8,5
ANOVA (P)	Saison	4.6 *	20.5 ***	10.7 **	39.1 ***	5.2 *
	Bassin	449.7 ***	44.6 ***	341.4 ***	99.2 ***	32.6 ***
	Saison x Bassin	0.7 ns	0.7 ns	0.4 ns	7.1 ***	0.5 ns

6.3.2.3. Mesures de photosynthèse et de fluorescence des chlorophylles

6.3.2.3.1 Paramètres photosynthétiques

Les plants de *Typha latifolia* échantillonés au sein de la lagune d'Étueffont différent de manière significative pour la plupart des paramètres photosynthétiques mesurés. Ainsi, la photosynthèse nette (Pn), la conductance stomatique (Gs), la concentration de CO_2 interne (Ci), et le taux de transpiration (E), sont diminués respectivement de 69, 68, 32 et 52% chez les plants soumis aux contraintes les plus élevées (entrée de la 1^{ère} lagune) par rapport au point de référence (Contrôle situé dans le ruisseau Gros Prés) (Tableau 6.10).

Les effets du stress induit par les métaux lourds ont été observés majoritairement chez les Typhas en croissance dans le premier bassin et dans une moindre mesure, dans le deuxième bassin du système de lagunage d'Étueffont. En revanche, les paramètres photosynthétiques sont diminués de moins de 10% dans le troisième et quatrième bassin du système (en comparaison avec le point de référence).

L'activité photosynthétique la plus élevée a ainsi été enregistrée chez les Typhas en croissance à la sortie du quatrième bassin du système. De même, nous avons pu observer les plus fortes valeurs de photosynthèse nette (Pn) associées à de fortes valeurs de conductance stomatique (Gs) chez ces mêmes Typhas. De plus, les concentrations de CO_2 internes sont similaires chez les Typhas en croissance à la sortie du quatrième bassin et sur le point de référence. Ces dernières observations soulignent un fort contrôle de la concentration de CO_2 interne à la fois par la conductance stomatique (Gs) et la photosynthèse nette (Pn).

La contrainte induite par les métaux lourds tend à réduire de manière significative les vitesses maximales de carboxylation du RuBP (V_{cmax} , -15 %) ainsi que le transport des électrons (J_{max} , -26%). Cependant, attendu que les diminutions observées étaient plus élevées pour les valeurs de J_{max} que pour celles de V_{cmax} , le rapport J_{max}/V_{cmax} (indicateur de l'allocation protéique attendu que V_{cmax} augmente généralement avec une teneur en azote des feuilles) a diminué avec l'augmentation des concentrations en métaux lourds dans le milieu environnant. (Tableau 6.10).

Tableau 6.10 : Variations des caratéristtiques photosynthétiques des Typha latifolia en cre	oissance au
sein des quatre bassins de la lagune d'Etueffont	

	Saison	$ \begin{array}{c} V_{cmax} \ (\mu mol \ CO_2 \\ m^{-2} \ s^{-1}) \end{array} $	$ \begin{array}{c} J_{max} \ (\mu mol \\ CO_2 \ m^{-2} \ s^{-1}) \end{array} $	$\begin{array}{c} A_{max} \ (\mu mol \\ CO_2 \ m^{-2} \ s^{-1}) \end{array}$	J _{max} /V _{cmax} Ratio
lagune 1 Entrée	Printemps	95,54±5,9	162,74±7,76	26,12±0,33	1,7±0,02
lagune 1 Sortie	Printemps	87,17±5,98	159,58±8,87	27,68±0,15	1,83±0,02
lagune 2 Sortie	Printemps	112,57±2,58	190,27±3,19	34,97±0,34	1,69±0,01
lagune 3 Sortie	Printemps	116,27±2,37	224,27±4,85	42,08±0,31	1,93±0.00
lagune 4 Sortie	Printemps	108,49±3,32	248,53±8,45	44,18±0,21	2,29±0,01
Contrôle	Printemps	112,37±3,1	219,26±5,01	40,95±0,09	1,95±0,01
lagune 1 Entrée	Eté	95,49±6,03	180,48±9,2	28,23±0,35	1,89±0,02
lagune 1 Sortie	Eté	91,45±4,98	193,44±10,68	31,73±0,4	2,12±0,01
lagune 2 Sortie	Eté	120,51±2,53	243,6±4,3	41,73±0,4	2,02±0,01
lagune 3 Sortie	Eté	123,88±2,5	303,72±7,92	52,47±0,38	2,45±0,01
lagune 4 Sortie	Eté	133,92±4,3	371,53±17	55,07±0,15	2,77±0,04
Contrôle	Eté	130,09±3,17	321,59±9,09	52,73±0,4	2,47±0,01
% Variation	Printemps	-15	-26	-46	-13
	Eté	-27	-44	-46	-23
ANOVA (P)	Saison	57.2***	547.0***	5445.6***	4653.3***
	Bassin	72.1***	242.3***	5753.6***	1536.4***
	Saison x Bassin	7.7***	32.2***	245.7***	98.2***

6.3.2.3.2 Fluorescence des Chlorophylles

L'analyse statistique met en évidence des différences significatives dans les paramètres de fluorescence entre les différents plants de *Typha latifolia* croissants dans les quatre bassins de lagunage du site d'Etueffont (ainsi que sur le point de référence). L'exposition croissante aux métaux lourds dans les bassins induit à la fois une légère diminution de la fluorescence Fo (la plus forte significativité a été enregistrée entre les plants croissants à l'entrée et à la sortie du système), le rendement de la fluorescence maximale (Fm) (P <0,001) et par conséquent le paramètre Fv (Fm-Fo). Par conséquent, le rapport Fv/Fm qui est un indicateur de l'état

physiologique des photosystèmes et du transport des électrons diminue avec l'augmentation des métaux lourds. Ce rapport est habituellement compris entre 0,81 et 0,84 pour des plantes non stressées.

Attendu que le rapport Fv/Fm est beaucoup plus modifié (Fv/2) que Fo qui caractérise le lien antenne – Photo-système 2 et l'état du pool de Qa (**Toth, 2006**), l'augmentation des concentrations en métaux lourds a une incidence sur la chaîne de transport des électrons et probablement sur le pool des plastoquinones des végétaux exposés. Logiquement, les valeurs les plus élevées de fluorescence variable et de fluorescence max (Fv, Fm) ont été mesurées chez les plants situés à la sortie du système de lagunage d'Étueffont (sortie du bassin 4) (ainsi que chez les plants du site de référence (ruisseau Gros Prés) (p <0,01) qui correspondent aux témoins.

L'efficacité photochimique du PSII (i.e. Fv/Fm) est souvent utilisée comme un indicateur de stress (**Bjoerkman et Demmig, 1987; Baker 2008**). Ainsi, nous avons observé une modification significative exposition-dépendante de ce paramètre chez les plants poussant dans le système de traitement des lixiviats d'Etueffont (p < 0,01).

De même, à la lumière, des différences significatives dans le rendement quantique de la photosynthèse (Φ PSII) ont été observées chez les plants soumis aux stress métalliques croissants. Ces différences sont également associées à une diminution progressive de l'ETR avec l'augmentation des niveaux d'exposition aux métaux lourds (p <0,01). L'augmentation des métaux lourds dans l'environnement a affecté négativement le Quenching photochimique (QP) des *Typhas* en croissance dans le système de lagunes.

Les résultats ont démontré une augmentation du Quenching non-photochimique (QN et NPQ) avec celle des concentrations en métaux lourds dans les 4 bassins du système d'Etueffont, ce qui suggère un processus de photo-inhibition par les métaux lourds dans les lagunes les plus polluées, associé à la baisse de photosynthèse.

Tableau 6.11: Variations des caractéristiques (μ mol photons m ⁻² .s ⁻¹) de fluorescence des Typ	oha						
latifolia en croissance au sein des quatre bassins de la lagune d'Etueffont.							

	Saison	Fo	Fm	Fv	FvFm	Qp	qN	NPQ	ETR	ETR%
lagune 1 Entrée	Printemps	528,2±10,8	2135±24	1607±14	0,75±0	0,78±0,02	0,45±0	0,51±0,01	200,9±4,1	78,2
lagune 1 Sortie	Printemps	517,7±9,6	2159±11	1641±11	0,76±0	0,78±0,01	0,44±0,01	0,5±0,01	211,83±2,4	82,4
lagune 2 Sortie	Printemps	511,9±8,3	2161±12	1650±8	0,76±0,01	0,77±0,01	0,44±0	0,5±0,01	215,93±2,4	84
lagune 3 Sortie	Printemps	508,4±10	2518±16	2010±13	0,8±0	0,83±0,01	0,36±0	0,4±0,01	255,57±2,4	99,5
lagune 4 Sortie	Printemps	507,1±8,7	2508±28	2001±20	0,8±0	0,83±0,01	0,36±0	0,4±0,01	256,93±2,4	100
Contrôle	Printemps	507,7±7,9	2517±16	2009±9	0,8±0	0,84±0,01	0,36±0	0,4±0	256,93±2,4	100
lagune 1 Entrée	Eté	545,1±9,9	2097±14	1552±21	0,74±0,01	0,78±0,01	0,48±0,01	0,55±0,01	189,97±2,4	75,5
lagune 1 Sortie	Eté	529±8,5	2032±12	1503±4	0,74±0	0,79±0,01	0,49±0	0,57±0,01	191,33±2,4	76,1
lagune 2 Sortie	Eté	531,2±9,1	2144±12	1613±5	0,75±0	0,83±0,01	0,45±0	0,52±0	214,57±2,4	85,3
lagune 3 Sortie	Eté	533,2±8,5	2483±9	1950±1	0,79±0	0,89±0,01	0,37±0	0,41±0	252,83±2,4	100,5
lagune 4 Sortie	Eté	529,2±7,3	2433±10	1904±4	0,78±0	0,88±0,01	0,38±0	0,42±0	250,1±0	99,5
Contrôle	Eté	530,9±6,9	2449±22	1919±15	0,78±0	0,84±0,01	0,38±0,01	0,41±0,01	251,47±2,4	100
ANOVA (P)	Saison	44.1 ***	118.9 ***	389.9 ***	130.7 ***	75.1 ***	352.8 ***	190.4 ***	94.2 ***	0
	Bassin	3.5 *	883.1 ***	1719.3 ***	179.9 ***	73.6 ***	1072.2 ***	862.1 ***	778.6 ***	
	Saison x Bassin	0.5 ns	8.4 ***	13.7 ***	2.3 ns	12.2 ***	29.3 ***	27.5 ***	12.1 ***	

6.4 Discussion

6.4.1 Analyse des sédiments

Les concentrations en métaux lourds des sédiments prélevés dans les quatre bassins du système de lagunage d'Étueffont étaient similaires (pour Ni) ou supérieures (pour Cd, Cu et Zn) aux concentrations couramment mesurées dans les sédiments (**Bowman and Harlock**, **1998**) et définies comme des valeurs de fond européennes (exprimées en mg/kg : Cd 0,1-1, Cu 2-100, Ni de 0,5 à 100, Zn 10-200).

À l'exception des éléments Cd et de Cr, les métaux lourds et métalloïdes présents dans les

sédiments d'Étueffont ont généralement dépassé les normes définies par MacDonald et al. (2000) pour la qualité des sédiments en eau douce.

Comparativement aux données présentées par **Samecka-Cymerman et al.** (**2004**) mesurées dans des zones humides artificielles à flux horizontaux ou verticaux, les sédiments dans les quatre bassins d'Étueffont ont présenté des plus fortes concentrations pour les éléments Cd, Cu, Mn et Zn.

De plus, les concentrations observées sur Étueffont au cours des deux saisons sont très similaires (Ni) ou supérieures (Cd, Cu, Mn et Zn) aux valeurs rapportées par **Sasmaz et al.** (2008) sur le site expérimental d'Elazig en Turquie.

Dans les échantillons de sédiments prélevés à Étueffont, les concentrations des différents éléments mesurées dans les sédiments atteignent des valeurs plus élevées au printemps qu'en été. Ces valeurs plus élevées au printemps peuvent être liées à une augmentation des apports à cette saison, mais également à des capacités de photosynthèse inférieures chez les plants, impactant ainsi l'absorption et la fixation (**Goulet and Pick, 2001**).

Par ailleurs, le cycle dissolution/précipitation des éléments tels que Mn peut modifier la spéciation qui contrôle largement la biodisponibilité des autres métaux lourds.

Ainsi, la concentration accrue en Mn au printemps dans les sédiments est induite lorsque ces éléments sont associés aux phases particulaires dans des conditions suboxiques à anoxiques (faible respiration microbienne) (Zaaboub et al., 2014).

La diminution observée en conditions estivales peut être induite par une réoxygénation et une libération de ces éléments dans l'eau circulant à travers le système.

6.5.2 Stockage des métaux lourds et métalloïdes dans les parties souterraines

L'analyse des macrophytes en croissance dans les quatre bassins du système de lagunage d'Étueffont a mis en évidence une forte accumulation de l'élément Mn dans les parties racinaires (racines et rhizomes) de *T. latifolia* avec un stockage plus important au printemps qu'en été.

Les valeurs observées, dans les conditions spécifiques du système de lagunage d'Étueffont et des conditions climatiques locales, sont en accord avec les données rapportées par **Sasmaz et al. (2008)** (Turquie) pour les éléments Cu, Mn, Ni et Zn. En revanche, pour Cd et Mn des concentrations plus élevées ont été mesurées dans les plants de *T. latifolia* poussant dans le système de lagunage d'Étueffont.

Les concentrations des éléments Cu et Zn mesurées dans les parties souterraines des plants de *T. latifolia* d'Etueffont étaient similaires à celle rapportés dans des plants collectés dans des zones humides estoniennes (**Maddison et al., 2009**) mais supérieures à celles observées par **Tanner** (**1996**) en Nouvelle-Zélande ou **Klink et al.** (**2013**) en Pologne.

Pour Cr, les valeurs observées sur le site d'Étueffont étaient généralement semblables aux valeurs rapportées pour les sites d'études les moins contaminés de la zone humide artificielle de Tanque Tenorio au Mexique (**Carranza-Álvarez et al., 2008**).

Les concentrations moyennes de Mn du site d'Étueffont étaient généralement plus élevées que celles rapportées pour des plants de la même espèce par **Carranza-Álvarez et al. (2008) et Klink et al. (2013**).

Les racines de macrophytes telles que *T. latifolia* agissent comme des filtres afin d'éviter les effets toxiques potentiels induits par une forte concentration d'un élément dans les parties aériennes. Ainsi, si des éléments toxiques tels que Cd, Cr et Ni (dans une moindre mesure Cu et Zn) sont fortement concentrés dans les sédiments, l'absorption et l'accumulation de ces métaux lourds dans les parties racinaires sont limitées par une absorption réduite (faible translocation des éléments des racines vers le rhizome ; **Ben Salem et al. (2015)** (moyenne ECR comprise entre 0,19 et 1,15).

Ces résultats sont en accord avec les observations de **Ahmad et al.** (2010) et de **Klink et al.** (2013), qui ont démontré une capacité de bioaccumulation de ces tissus souterrains (racines et rhizomes) associée à une forte capacité à limiter le transfert vers les parties aériennes chez ces

espèces tolérantes aux métaux lourds, et qui est très probablement liée à la présence de systèmes de transport des éléments peu efficaces et des mécanismes d'exclusion (**Zhao et al., 2002**).

La limitation des transferts vers les parties aériennes et la bioaccumulation dans les parties souterraines sont caractéristiques d'espèces excluantes (**Peverly et al., 1995; Weis and Weis, 2004**). Ces caractéristiques s'opposent aux hyperaccumulatrices qui ont une absorption facilitée et une forte translocation vers les parties aériennes.

Cette accumulation dans les racines par la plupart des macrophytes vasculaires est fortement liée à leur faible sélectivité pour les métaux lourds présents dans le milieu environnant en raison d'un système lacunaire avec de larges espaces intercellulaires dans le parenchyme cortical (**Sawidis et al., 1995**).

En outre, les éléments impliqués dans les processus photosynthétiques, tel que Mn, sont efficacement absorbés par le système racinaire des macrophytes (EC_BG moyen compris entre de $2,39\pm0,11$ à $3,5\pm0,2$ au printemps et de $1,91\pm0,1$ à $2,88\pm0,18$ en été pour Mn).

Cependant, le système racinaire exerce une forte sélection pour cet élément (Mn) comme en témoigne les faibles EC_AG observés (EC_AG moyen compris entre $0,58\pm0,02$ et $0,86\pm0,02$ au printemps et entre $0,42\pm0,01$ et $0,59\pm0,04$ en été.

Ainsi, ce sont les concentrations des métaux lourds observées dans les parties souterraines (parties très développées chez les macrophytes) qui tendent le plus à refléter les concentrations mesurées dans les sédiments collectés au pied de ces derniers que les valeurs mesurées dans l'eau (Sawidis et al., 1995; Deng et al., 2004; Aksoy et al., 2005; Ben Salem et al., 2016).

Cependant, la voie d'exposition (et la biodisponibilité des métaux lourds) est dépendante des échanges entre l'eau et le sédiment, ainsi que des interactions entre éléments. Ces changements sont directement impactés par les paramètres environnementaux de l'eau d'une part, et du sédiment d'autre part, Température (T°C), le potentiel d'Oxydo-Réduction (ORP) , le pH, la teneur en ions de l'eau, la salinité) (Larsen and Schierup, 1981; Schierup and

Larsen, 1981).

6.4.3 Stockage dans les parties aériennes (EC_AG et TLF)

Les concentrations moyennes de la plupart des métaux et métalloïdes dans partie aérienne des macrophytes (*T. latifolia*) poussant dans les trois premières lagunes d'Etueffont sont soit plus élevées (pour les éléments Mn et Zn), soit dans la même fourchette de valeurs (pour les éléments Cu, Cd et Ni) que celles rencontrées chez les plants en croissance dans les zones humides en Pologne (**Klink et al ., 2013**). À l'exception de Mn, les concentrations en métaux lourds des *Typhas* sont inférieures à celles rapportés par **Sasmaz et al. (2008**) en Turquie.

Bien que les concentrations des éléments Cd, Cu et Zn soient similaires à celles rapportées par **Maddison et al.** (2009) (Estonie), les valeurs supérieures ont généralement été mesurées pour Zn dans les parties aériennes sur le site expérimental d'Étueffont.

Les concentrations de ces éléments au cours de la présente étude sont restées inférieures aux valeurs seuils de référence pour les végétaux (Cu : 20-100 mg / kg ; Zn : 100-400 mg / kg), quel que soit le point d'échantillonnage ou la période.

Pour Mn, les concentrations moyennes dans les parties échantillonnées des macrophytes dans les différents bassins de la lagune d'Étueffont sont généralement du même ordre de grandeur que celles observées pour la même espèce par **Carranza-Álvarez et al. (2008)** au Mexique mais dépassent les seuils définis par **Allen (1989) et Markert (1992)** avec des concentrations représentant jusqu'à six fois les seuils phytotoxiques définis par **Allen (1989) et Markert (1992)** pour cet élément (respectivement 300-500 et 30-700 mg/kg). De même, les concentrations de Mn mesurées dans les bassins d'Etueffont dépassent les limites d'effets phytotoxiques rapportés par **Pais et Jones (2000)**.

Cet élément et Fe sont directement ou indirectement impliqués en tant que transporteurs d'électrons dans de nombreux processus biologiques, tels que la photosynthèse, la respiration, des procédés enzymatiques d'oxydo-réduction, de réduction photochimique des nitrates et réduction des nitrites, la fixation symbiotique de N_2 , le métabolisme azoté et l'utilisation des

glucides (**Pais et Jones, 2000; Memon et al., 2001; Carranza-Álvarez et al., 2008**). Mn agit aussi en tant qu'inhibiteur dans le cas de la biosynthèse des chlorophylles.

Les dépassements observés peuvent être à l'origine d'effets toxiques sur la photosynthèse des plants en croissance, se traduisant par des baisses de développement de biomasse comme cela a pu être observé lors de cette étude dans les différents bassins d'Étueffont.

Le facteur de transfert (TLF) indique généralement un faible transport des éléments des parties racinaires vers les parties aériennes, avec des valeurs de TLF ne dépassant pas 1.

L'absorption et la bioaccumulation de Cu, Ni et Zn dans les parties aériennes étaient très limitées avec des valeurs inférieures à 0,2 (EC_AG), ce qui indique une translocation peu efficace des métaux lourds du système racinaire (racine et rhizome) vers les parties aériennes des *Typhas*.

Aussi, cette immobilisation des métaux lourds dans le système racinaire est vérifié par le TLF déterminé, qui souligne les capacités d'exclusion de ces macrophytes comme le font les métallophytes (**Bonanno, 2011;. Klink et al, 2013**).

Cependant, certains éléments sont moins immobilisés dans les organes du système racinaire comme le démontrent les valeurs accrues de EC_AG et de TLF de ces derniers. Ainsi, si certains éléments sont séquestrés dans des parties souterraines du végétal, Mn est plus facilement transporté que les autres éléments étudiés et présente de plus fortes concentrations dans les parties aériennes de *T. latifolia* échantillonnées quel que soit le point d'échantillonnage (moyenne EC_AG : 0.58 ± 0.02 à 0.86 ± 0.02 au printemps et de 0.42 ± 0.01 0.59 ± 0.04 en été ; moyenne TLF : 0.18 ± 0.01 à 0.29 ± 0.01 au printemps et de 0.19 ± 0.01 à 0.24 ± 0.01 en été). Ces résultats sont en accord avec les valeurs de TLF observées par **Sasmaz et al. (2008)** ou par **Klink et al. (2013)**.

Ainsi, l'aptitude à exclure les métaux lourds des parties aériennes de l'espèce *T. latifolia* dans les conditions spécifiques du système de lagunage d'Étueffont est la suivante : Ni < Zn < Cu < Mn (Non évalué pour As, Cd et Cr qui étaient inférieurs aux seuils de détection).

Pour tous les éléments étudiés, des différences de TLF ont été observées entre les macrophytes croissant dans les 4 bassins du système d'Étueffont au printemps et en été. En revanche, une diminution du TLF, avec la baisse progressive des concentrations dans les quatre bassins étudiés, a été observée avec Mn au cours des deux saisons.

Les plus faibles concentrations en métaux lourds observées dans les parties aériennes (par rapport aux parties racinaires) peuvent être liées à des mécanismes de protection mis en place par les végétaux tolérants afin de faire face au stress métallique induit par la contamination des sédiments environnants, et ainsi de limiter le transport vers les parties aériennes des éléments toxiques afin d'éviter les effets délétères sur le métabolisme et la photosynthèse (**Peverly et al., 1995**).

Ce processus de séquestration dans les parties racinaires peut résulter de l'absorption physique de ces éléments toxiques sur des sites chargés négativement des parois cellulaires du système racinaire (**Mangabeira et al., 1999**). Cependant, la séquestration de ces éléments phytotoxiques, ainsi que la translocation des éléments essentiels dans les parties aériennes de la plante peuvent être affectées par des processus conflictuels ou synergiques entre éléments.

La dynamique saisonnière de croissance des plantes et les variations saisonnières de capacité de stockage et de détoxification peuvent aussi grandement influencer le transport des métaux lourds entre les différents organes de la plante (**Mishra et al., 2008**). D'autre part, malgré leur caractère essentiel sous forme d'oligoéléments pour le métabolisme des plantes et fortement transportés vers les parties aériennes pour les processus métaboliques, des éléments tels que Cu, Fe, Mn et Zn, nécessaires en tant que cofacteurs du métabolisme peuvent également avoir des effets néfastes si leur concentration dépasse des valeurs seuils dans les tissus. L'exposition, à de fortes concentrations, conduit à d'importantes altérations dans les processus photosynthétiques (**Baszynski et al., 1980**; **Memon et al., 2001**), affectant le transport des électrons photosynthétiques (**Siedliecka et Baszynski, 1993**), la photophosphorylation (**Baszynski et al., 1980**), la capacité de fixation du carbone (**Bienfait, 1988**), le métabolisme des glucides (**Borkert et al, 1998**), l'activité enzymatique ou les fonctions protéiques (**Bonanno et Lo Giudice, 2010**).

Des concentrations élevées de ces éléments essentiels et toxiques se sont avérées affecter la synthèse et la dégradation des pigments photosynthétiques (Stiborova et al., 1986) et

l'ultrastructure des chloroplastes (Stoyanova et CHAKALOVA, 1990).

Des perturbations dans l'absorption des nutriments et dans l'assimilation du sulfate (**Baszynski et al., 1980**), la balance hydrique (due à une altération des propritétés de la membrane plasmique) (**Sanità di Toppi et Gabbrielli, 1999**), la croissance et la prolifération racinaire (**Šottníková et al., 2003**) ont été également décrits dans la littérature comme résultant de dépassements de seuils critiques de concentration en métaux lourds.

Ainsi, la majeure partie du Mn (ainsi que les autres éléments transférés vers les parties aériennes de la plante) est probablement concentrée sous une forme non toxique dans les parois cellulaires de l'épiderme, dans le collenchyme, dans les cellules de la gaine, et dans le compartiment vacuolaire et l'apoplaste de la feuille, loin des compartiments métaboliquement actifs, comme par exemple le cytosol, la mitochondrie et le chloroplaste (**Memon et al., 1981**).

Défini comme une stratégie de tolérance afin de protéger les parties aériennes de la plante des effets nocifs induits par le stress métallique, des processus de séquestration ont également été démontrés pour Cd (**Taylor et Crowder, 1983**) et Zn (**Klink et al., 2013**) chez *T. latifolia*.

6.4.4 Effets des métaux lourds et métalloïdes sur les paramètres morphologiques

Les concentrations en métaux lourds dans le sédiment du premier bassin du système de lagunage d'Étueffont semblent dépasser la capacité de tolérance de l'espèce *Typha latifolia*, conduisant à des différences significatives dans la production de la biomasse aérienne et racinaire, sans pour autant éliminer cette espèce de ce bassin et ainsi permettre à cette lagune de jouer son rôle dans l'abattement en métaux lourds. De même, des différences significatives apparaissent dans d'autres paramètres morphologiques connexes. Ces observations sont en accord avec les effets constatés par **Maddison et al. (2009)** dans des stations expérimentales localisées en Estonie, et par **Wild et al. (2002)** en Allemagne.

Corrélativement, les plus fortes différences d'accumulation des métaux lourds dans les différentes parties du végétal ont été observées entre les plants en croissance à l'entrée du premier bassin et les plants collectés à l'exutoire du système (sortie du bassin 4) et sur le site

témoin (ruisseau Gros Prés). De même, les plus fortes différences morphologiques chez les plants étudiés ont été observées entre l'entrée et la sortie du système de lagunage, confirmant la relation négative entre la contamination en métaux lourds des végétaux (liée à la contamination de l'eau et des sédiments), la teneur foliaire en chlorophylle (Chl *a*, Chl *b*), en caroténoïdes et la production de biomasse.

6.4.5 Effets des métaux lourds et métalloïdes sur la photosynthèse

La photosynthèse, conduisant à la formation de composés organiques riches en énergie, est essentielle pour le développement du végétal et la production de biomasse (**Buchanan et al ., 2000**). Malgré l'importance écologique de *Typha latifolia*, peu de données sont disponibles sur les caractéristiques photosynthétiques de cette espèce dans des conditions de stress métallique.

Ainsi, le travail de recherche effectué avec le Dr Laffray Xavier a été centré sur les effets des métaux lourds sur les échanges gazeux et la fluorescence des chlorophylles au cours de deux saisons : printemps et été, correspondant à deux phases physiologiques importantes, formation de nouveaux organes et production d'assimilats pour une mise en réserve.

Au cours de cette étude, nous avons pu observer que des concentrations élevées de métaux lourds induisent une baisse significative de la photosynthèse nette chez les plants en croissance dans le premier bassin du système en comparaison aux autres points de mesure et au contrôle (situé dans le ruisseau Gros Prés).

En outre une diminution de la transpiration et de la conductance stomatique a également été observée, corrélativement à l'augmentation des concentrations en métaux lourds. Ces réponses des *Typha*, macrophytes émergents, soulignent des mécanismes d'adaptation importants développés par ces végétaux pour faire face à l'effet toxique d'une exposition aux métaux lourds qui modifie probablement l'absorption racinaire de l'eau et / ou son transport (Angelov et al., 1993a, b ; Bazzaz et al., 1974 ; Becerril et al., 1988 ; Barcelo et Poschenrieder, 1990 ; Bishnoi et al., 1993).

Lorsque la plante est stressée, la racine et le rhizome sont soumis à un manque d'eau (Yang et al., 2004) lié à des effets négatifs sur l'absorption d'eau et son transport qui sont aussi dépendants de l'activité des aquaporines (canaux à eau) sensible aux métaux lourds (**Barceló et Poschenrieder, 1990; Kasim, 2007; DiSante et al., 2010**). Ce stress hydrique conduit à une réduction de la disponibilité en eau pour les parties aériennes et à une fermeture des stomates.

Toutefois, si la fermeture des stomates réduit l'approvisionnement en CO₂ atmosphérique conduisant à une diminution de la photosynthèse nette (**A**) (**Hopkins, 1999**), d'autres paramètres physiologiques sont susceptibles de réduire l'activité photosynthétique tels que les contenus en chlorophylle, la photochimie et les activités enzymatiques associées au métabolisme carboné. Ainsi, l'activité photosynthétique peut être diminuée par la réduction de la concentration en chlorophylle des feuilles (**Pezeshki , 2001**), comme cela a été observé chez les plants fortement exposés aux métaux lourds du système de lagunage d'Étueffont . Ces effets sur la teneur en chlorophylles dans les feuilles de *Typha latifolia* sont en accord avec les réponses de différentes espèces soumises au stress métallique (**Godbold, 1984; Rai et al., 1991; Hussain et al., 1991; Vangronsveld & Clijsters 1992; Kahle 1993; Krupa et al., 1993a, b; Kalavrouziotis et al., 2007**).

Pendant la campagne de suivi, la photosynthèse nette (Pn), la conductance stomatique (gs) et la transpiration, mesurée sur les feuilles de *Typha latifolia*, ont diminué avec l'augmentation progressive de l'exposition aux métaux lourds dans les quatre bassins interconnectés d'Étueffont. Les effets les plus significatifs ont été observés pour les paramètres photosynthèse nette (Pn) et conductance stomatique (gs), comparativement aux variations de Ci entre les différents plants en croissance dans les bassins et sur le site de contrôle.

L'absence d'une relation linéaire entre l'exposition aux métaux lourds et les variations de Ci suggère un effet direct de la contrainte métallique sur l'assimilation du carbone en plus de son effet sur gs, dans la mesure où les % de réduction de Gs et de Pn varient dans les mêmes proportions, (cf formule simplifiée Ci = Ca – Pn/G_{sc}: si Gs seul diminue, Ci diminue ; si Pn et Gs diminuent ensemble, Ci reste constant ou augmente, comme cela se produit en cas de stress hydrique sur les espèces non hydrophytes car P tend vers 0 et la plante passe en respiration pour survivre). L'accumulation des métaux lourds dans les cellules du mésophylle peut inhiber ditrectement l'assimilation du carbone, ce qui entraîne une augmentation de la Chapitre 6 Les effets des métaux lourds sur les échanges gazeux et la fluorescence des chlorophylles dans *Typha latifolia*

concentration en CO_2 interne, et enfin, par effet rétroactif, réduit la conductance stomatique (**Maxwell and Johnson, 2000**). Enfin, on ne sait rien sur l'action des métaux lourds sur les enzymes participant à la solubilisation du CO_2 (anhydrases carboniques dont on sait depuis peu qu'elles existent sous 3 formes, pariétales, cytotoxiques et chloroplastiques)

Conclusions

L'élimination des éléments toxiques via le processus de bioaccumulation dans les tissus de macrophytes aquatiques a été étudiée au printemps et en été dans les quatre lagunes interconnectées du système de lagunage d'Étueffont.

Les concentrations dans le sédiment, les parties racinaires et aériennes de *T. latifolia* ont été analysées.

Les résultats démontrent que les systèmes de lagunages artificiels tels que celui construit à Étueffont peuvent traiter efficacement les lixiviats issus d'une décharge d'ordures ménagères pour obtenir des effluents de haute qualité environnementale qui peuvent être rejetés dans l'environnement sans danger pour les eaux de surface et souterraines.

Les concentrations des métaux étudiés dans les différents tissus de *T. latifolia* sont généralement plus élevées dans les parties racinaires que dans les parties aériennes, ce qui implique une faible mobilité des métaux lourds.

T. latifolia est une espèce tolérante vis à vis des fortes concentrations en éléments potentiellement phytotoxiques présents dans les lixiviats et accumulés dans les sédiments du système de lagunage d'Étueffont.

Cependant, les concentrations élevées de métaux lourds observées dans les sédiments du premier bassin du système de lagunage de la station peuvent atteindre le seuil de tolérance de cette espèce. Le stress lié à ces fortes concentrations induit une modifification des caractéristiques photosynthétiques et conduit à des réductions de croissance des macrophytes (comparativement à ceux poussant dans la quatrième et dernière lagune du système).

Une gestion prudente, avec la récolte des parties aériennes de la plante avant la sénescence à la fin de la saison de croissance (fin de l'été) est préconisée afin d'éviter le retour des métaux lourds accumulés vers le sédiment par une dégradation des parties aériennes sénescentes à l'automne.

La surveillance en continu à long terme associée à des études complémentaires sur les macrophytes en croissance dans les quatre bassins interconnectés du système de lagunage d'Etueffont sera nécessaire si l'on veut obtenir un aperçu des variations saisonnières et annuelles de bioaccumulation des métaux lourds et métalloïdes de *T. latifolia*.

© A2G Drone Vision - Gilles Gallinet

Chapitre 7 Étude des microorganismes de la décharge d'Étueffont : apport de la cytométrie en flux

7.1 Introduction

La cytométrie en flux est une technique qui permet de mesurer à grande vitesse les multiples propriétés de particules individuelles en suspension (cellules, microorganismes, virus...) dans un courant de fluide à travers un faisceau laser. La cytométrie en flux est devenue de plus en plus populaire parmi les limnologues et biologistes pour des études en laboratoire et sur le terrain. La cytométrie en flux est en particulier un moyen idéal pour identifier, recenser et estimer les densités cellulaires et les proportions relatives des organismes en suspension du phytoplancton et du picoplancton.

Pourquoi utiliser la cytométrie ?

- Analyse multiparamétrique à l'échelle individuelle
- Analyses rapides (plusieurs dizaines de milliers de particules analysées

par seconde)

- Permet d'analyser un grand nombre de cellules
- Résultats statistiques robustes et représentatifs
- Données quantitatives (corrélation avec d'autres données biochimiques)
- Mesures en temps réel, échantillon frais ou fixé
- Classes de taille et abondance cellulaire
- Marqueurs uniques :
- naturels (chlorophylle, autres pigments autofluorescents)
- induits (coloration) fluorochromes (structure, physiologie, viabilité)

• Tri (post-analyses, cultures) : isolement de populations d'intérêt (méthode non destructive ; pas d'altération des cellules).

Le terme plancton a été défini scientifiquement pour la première fois par **Hensen** (**1887**) afin de permettre la caractérisation de l'ensemble des organismes vivants, animaux et végétaux, qui flottent dans les eaux. Bien que certains organismes planctoniques puissent atteindre des tailles importantes, comme les méduses, la très grande majorité du plancton est tellement petite que l'utilisation d'un microscope devient essentielle pour en faire l'observation. Ces organismes planctoniques peuvent être caractérisés en se basant sur leur rôle fonctionnel dans l'écosystème, ou encore selon des critères génétiques, taxonomiques (**Stockner et Antia 1986**) ou de taille (**Sieburth et al. 1978**).

Le phytoplancton est composé de l'ensemble du plancton végétal, c'est-à-dire des microorganismes photosynthétiques (Jeffrey et al., 1997) dérivant dans les masses d'eau. Il s'agit de cellules, colonies ou filaments dont les mouvements dépendent essentiellement de ceux de l'environnement aquatique et/ou qui sont mobiles mais dont les déplacements sont relativement restreints dans la masse d'eau. Il existe deux types de phytoplancton selon la présence ou non d'un noyau cellulaire (respectivement eucaryote et procaryote), appartenant aux domaines taxonomiques Eukarya et Bactérie, respectivement. Les principaux groupes sont déterminés par des critères morphologiques, cytologiques, génétiques, biochimiques et reproductifs. On distingue cependant plusieurs groupes principaux qui sont généralement considérés dans les études de la dynamique phytoplanctonique (liste non exhaustive) : Chlorophytes, Xanthophycées, Cyanobactéries, Chrysophycées, Diatomées (Bacillariophycées), les Cryptophytes, les Dinoflagellés et les Euglenophytes. Une autre classification, selon la taille, se superpose à la précédente : le picoplancton (de 0,2 à 2 µm), le nanoplancton (de 2 à 20 µm) et le microplancton (de 20 à 200 µm). Le phytoplancton est un groupe polyphylétique très diversifié comptant plus de 15000 espèces décrites (Thyssen 2008) dont 4000 marines (Simon et al., 2009) et dont la majorité est probablement toujours non décrite, spécialement au sein du pico- et nanoplancton (Simon et al., 2009).

Les microorganismes phytoplanctoniques, à la fois procaryotes et eucaryotes, sont responsables d'environ 45% de la photosynthèse globale annuelle, et la structure de leur communauté joue un rôle clé dans le lien entre les cycles biogéochimiques et trophiques et la dynamique du réseau.

Les micro-organismes aquatiques forment, par leurs interactions multiples, un réseau trophique microbien extrêmement complexe. Ce réseau est composé, notamment, de la boucle microbienne, c'est-à-dire de bactéries hétérotrophes, qui utilisent la matière organique dissoute, et de protistes phagotrophes, qui consomment les bactéries. L'équipe du laboratoire de biologie des protistes ("Laboratoire de biologie des protistes" CNRS-Université Clermont 2) a mis en évidence que la boucle microbienne accroît la productivité des milieux en transférant une part significative de la production picoplanctonique vers les niveaux

trophiques supérieurs. Ces conclusions se démarquent de l'hypothèse classique, qui attribue la quasi-totalité du flux de matière à la voie photosynthétique (phytoplancton \rightarrow zooplancton \rightarrow poissons) (Ventelä et al., 2002).

Le zooplancton joue un rôle important dans la chaîne alimentaire des lacs d'eau douce, servant de lien entre les niveaux trophiques inférieurs (phyto-, protozooplankton) et supérieur (poisson). La pression d'alimentation sélective par différentes larves de poissons planctonophages est l'un des facteurs les plus importants qui façonnent les communautés de zooplancton, affectant la structure, l'abondance et la biomasse des différents groupes d'organismes (**Jeppesen et al., 1992**). Ainsi, l'aptitude des organismes du zooplancton à utiliser des proies au niveau du phytoplancton et / ou de différents groupes de protistes, ainsi que la pertinence du zooplancton comme nourriture pour les poissons déterminent l'efficacité de la matière et de la transformation de l'énergie par le biais de la chaîne alimentaire.

Lorsque le phytoplancton ne peut pas être brouté par les métazoaires, il entre dans la boucle microbienne moins efficace qui est médiée par des bactéries et des protistes. En conséquence, les protistes planctoniques font actuellement l'objet d'un examen plus approfondi dans les études du réseau alimentaire aquatique.

7.2 Matériel & méthodes

Afin de suivre l'évolution à long terme des lixiviats du système de lagunage, deux campagnes d'analyses physico-chimiques ont été réalisées sur le terrain (avril - novembre 2014).

- une série de prélèvements d'eau, en sortie de réseaux de collecte et directement dans les lagunes : trois prélèvements ont été effectués dans chaque lagune, soit en amont, au milieu et en aval (comme indiqué dans les chapitres 3 et 5). Les échantillons sont conservés dans des flacons de 2 ml placés à - 80c jusqu'au moment de l'analyse. Les points d'échantillonnage de l'eau souterraine sont ceux indiqués chapitre 5.

7.2.1 Etude des paramètres biotiques

7.2.1.1 Prélèvement et conservation des échantillons d'eau des lagunes

La collecte des échantillons pour l'étude de la communauté phytoplanctonique, ciliaires et des assemblages bactériens a été effectuée par une bouteille fermante de 1 litre pour les

échantillons à à prélevés la surface et l'interface eau-sédiment. - Les échantillons destinés à l'analyse des procaryotes hétérotrophes et des populations ultraphytoplanctoniques ont été fixés par le formol boraté à un pH de l'ordre de 7,2 (1,8 ml d'eau brute + 0,2 ml de formol boraté) et conservés immédiatement dans l'azote liquide. Au laboratoire, ces échantillons sont conservés dans chambre froide à -80 °C. -Les échantillons destinés à l'analyse du microphytoplancton et des ciliés ont été fixés par le lugol (4%) (Bourrely, 1985). Les prélèvements sont conservés à l'obscurité dans une solution à 5% de formol tamponné (Rose, 1933) et placés à 4 °C.

7.2.1.2 Détermination et comptage du microphytoplancton et des ciliés

Au laboratoire un aliquote de chaque échantillon (20 ml) est sédimenté dans une cuve de sédimentation pendant 24 h (Figure 7.1). L'identification et l'énumération des ciliés et du microphytoplancton ainsi que l'estimation de l'abondance des différents groupes algaux ont été réalisées à l'aide d'un microscope à phase inversée (Figure. 7.2) en se basant sur la méthode **d'Utermöhl** (**1958**) (Figure 7.3). Les ciliés sont identifiés selon leurs caractéristiques morphologiques spécifiques, et en se basant sur les clés de détermination spécifiques ((**Alder, 1999**), (**Petz, 1999**); (**Struder-Kypke and Montagnes, 2002**)). L'identification des différents taxons microphytoplanctoniques a été réalisée grâce aux clés de détermination et du comptage des espèces ciliaires et microphytoplanctoniques est détaillée au niveau de la Figure7.4. La densité ciliaire et microphytoplanctonique est exprimée en cellules l⁻¹.





Figure 7.1: procédure de sédimentation

Figure 7.2: deux cuves de sédimentation de 20 et 10 ml





Figure 7.3: microscope inversé de type Leica

Figure 7.4: méthode de comptage d'Uthermöhl

7.2.1.3 Identification des procaryotes hétérotrophes et des populations ultraphytoplanctoniques par cytométrie en flux

7.2.1.3.a. Détermination et comptage des procaryotes hétérotrophes

Pour la première fois dans le monde, des échantillons d'eau issus d'une décharge d'ordures ménagères ont été analysés par cytomètrie en flux. Les expériences ont été réalisées à la plateforme régionale de cytomètrie en flux pour la microbiologie (PRECYM, https://precym.mio.univ-amu.fr) à l'Institut Méditerranéen d'Océanologie (MOI) de Marseille, en utilisant un cytomètre en flux FACS Calibur (Becton Dickinson). Les échantillons ont été décongelés à température ambiante et homogénéisés afin d'être préparés pour l'analyse. Pour déterminer l'abondance relative entre procaryotes hétérotrophes et pico-nanoplancton autotrophes, des sous-échantillons $(1,8 \text{ cm}^3)$ ont été immédiatement fixés après l'échantillonnage avec 0,2 cm³ de formol boraté à 20% (p/v) à un pH de l'ordre de 7, et conservés dans l'azote liquide. Au laboratoire, ces échantillons sont conservés dans une chambre froide à -80 °C, puis placés dans la glace carbonique pendant le transfert à l'Institut Méditerranéen d'Océanologie (MIO) de Marseille, (plate-forme régionale de cytomètrie en flux pour la microbiologie ; PRECYM, https://precym.mio.univ-amu.fr). Les échantillons ont été décongelés à température ambiante, homogénéisé et directement analysés pour l'étude du pico et nanophytoplancton. Pour les analyses des procaryotes hétérotrophes, un souséchantillon de 300 mm³ a été incubé pendant 15 min dans le noir avec 10 mm³ d'une solution de SybrGreen (Sigma, solution commerciale diluée 1000 fois) pour marquer les acides nucléiques et distinguer sans ambiguïté les procaryotes hétérotrophes (fluorescence verte) des particules inorganiques, des détritus et des molécules d'ADN libre (Marie et al, 2000). Le SybrGreen est largement utilisé pour marquer les acides nucléiques des bactéries aquatiques et en particulier des bactéries marines (**Lebaron et al, 1998**). Il représente un colorant de choix en raison de son rendement de fluorescence élevé lorsqu'il est lié à des acides nucléiques (<u>http://www.invitrogen.com</u>). Les données ont été analysées avec le logiciel SUMMIT (DAKO). Des groupes ont été définis sur la base des propriétés optiques des cellules en relation avec la diffusion et la fluorescence. De petites cellules autotrophes potentiellement imbriquées avec des procaryotes hétérotrophes, ont été éliminées après avoir été identifiées par leur fluorescence rouge.

7.2.1.3.b. Détermination et comptage des populations ultraphytoplanctoniques

Les populations ultraphytoplanctoniques autofluorescentes, ont été détectées directement par cytomètrie sans marquage préalable grâce à leurs pigments photosynthétiques. La fluorescence rouge (668-734 nm) est la principale bande d'émission de la chlorophylle-*a*. La fluorescence orange (601-668 nm) permet de distinguer les particules contenant des pigments accessoires tels que les phycobilines (phycocyanines) contenus dans les cyanobactéries et les cryptophytes. La fluorescence jaune/vert (536-601 nm) permet de distinguer les particules contenant des phycoérythrines également contenues dans les cyanobactéries et les cryptophytes. 490 μ l de chaque échantillon d'eau décongelée ont été prélevés, 10 μ l d'une solution de billes (2 μ m) et 50 μ l de solution de billes (TC) pour le contrôle de l'instrument et le traitement des données ont été ajoutés. Après homogénéisation grâce à un vortex, l'échantillon a été analysé par le cytomètre analyseur FACS Calibur.

7.2.1.4. Concentration des populations de procaryotes hétérotrophes et ultraphytoplanctoniques

Le cytomètre en flux FACS Calibur (Becton Dickinson) ne permet pas d'accéder directement à la concentration des cellules (nombre de cellules par ml) car le débit n'est pas contrôlé par un système calibré. Il faut donc calculer le débit de l'instrument et pour cela des pesées doivent être réalisées avant et après une analyse de 3 min. La moyenne des trois pesées est ensuite convertie en volume. Pour cela, un volume connu d'échantillon (par exemple 1ml) est pesé de manière à déterminer sa masse volumique. Cette démarche permet ensuite de déterminer le débit, c'est-à-dire le volume analysé par unité de temps.

Le débit d'analyse du cytomètre est déterminé chaque jour Débit (μ l s⁻¹) = P2 x 10³/ (P1 x 180) P1: masse volumique de 1 ml d'échantillon (mg) P2 : masse prélevée pendant 3 min (mg)

Le volume analysé (µl) par l'appareil est alors déterminé

V= Débit x T

T : temps d'analyse (s)

La concentration cellulaire C (*cell* ml⁻¹) des populations de procaryotes hétérotrophes et ultraphytoplanctoniques est alors calculée de la façon suivante :

 $C = (N \times F \text{ dilution } \times 1000)/V$

N : nombre d'événements comptés

 $V: volume \; analysé \, (\mu l)$

F dilution : facteur de dilution (tenant compte de la dilution par le formol boraté (0,2 ml dans

1,8 ml), ainsi que l'ajout de la suspension de billes (60 µl dans 490 µl)

F dilution = (550/ 490) x (2/1,8)= 1,25

7.2.2.4 Principe du fonctionnement du cytomètre en flux

Le cytomètre en flux se compose de trois parties :

Partie fluidique Partie optique Partie électronique et informatique

Pour certains appareils, il existe en plus une fonction de tri



Figure 7.5 : principe de fonctionnement du cytomètre en flux.

Les cellules en suspension dans un échantillon sont injectées au cœur d'un flux laminaire créé par un liquide de gain.

Ce liquide entraîne les cellules les unes à la suite des autres vers une chambre d'analyse (chambre de flux).

Les particules sont interceptées par un faisceau de lumière durant une période ne de l'ordre de la microseconde.

L'interaction de la cellule avec le faisceau laser génère des signaux de diffusion et de fluorescence

La lumière diffusée par la cellule peut être recueillie dans L'axe de la lumière incidente : diffusion aux petits angles (liée à la taille de la cellule).

Entre 8° et 90° de l'axe de la lumière incidente : diffusion aux grands angles ou diffusion orthogonale (liée à la granulosité et la structure de la cellule).

Sous l'effet de l'excitation du laser, les cellules peuvent être le siège d'émission de fluorescence par des pigments naturels ou des marqueurs artificiels, collectés par des

photomultiplicateurs qui convertissent les signaux optiques en signaux électriques, ensuite numérisés et mémorisés dans une base de données appropriée.

Les résultats seront présentés sous forme de cytogrammes (représentation d'un signal en fonction d'un autre) ou d'histogrammes (signal représenté en fonction sa fréquence).

7.2.1.5 Les assemblages des procaryotes hétérotrophes

Marquage artificiel du contenu cellulaire en acides nucléiques par un fluorochrome :

DAPI (Kleinsteuber et al., 2006)

SYBER Green I, II, III (Marie et al., 1997)

Deux groupes de procaryotes qui diffèrent par leur contenu en acides nucléiques :

HNA = Groupe à fort contenu en acides nucléiques (actifs).

LNA = Groupe à faible contenu en acide nucléiques (dormants).

Cette technique ne permet d'accéder ni à l'espèce ni au genre.

7.2.1.6 Les assemblages autotrophes

La caractéristique fonctionnelle de base utilisée pour décrire les assemblages microbiens autotrophes est la chlorophylle, pigment photosynthétique majeur autofluorescent.

Les populations mixtes peuvent être détectées et discriminées dans un même échantillon grâce aux propriétés optiques des cellules (taille, volume, forme indice de réfraction) et à leur composition pigmentaire.

7.2.1.7 Acquisition et traitement des données cytomètriques

Les signaux optiques associés aux différentes longueurs d'onde de fluorescence naturelle ou artificielle, fonction de la sonde fluorescente, du type de pigment photosynthétiques et de la longueur d'onde d'excitation du laser utilisé, sont séparés par des filtres optiques, puis collectés par des photomultiplicateurs, convertis en signau électriques, amplifiés, numérisés, traités et stockés dans un ordinateur. Un logiciel Summit (Dako) est utilisé pour le calcul des données statistiques associées aux distributions des signaux mesurés. Les résultats sont

représentés sous la forme d'histogrammes (1 signal représenté en fonction de sa fréquence de détection) ou de cytogrammes (nuage de points représentant 2 signaux générés par une même cellule) permettant d'identifier, d'énumérer et de discriminer les sous-populations des procaryotes hétérotrophes et d'ultraphytoplanctons. La distinction entre les différents groupes cellulaires détectés sur les cytogrammes se fait en traçant des fenêtres qui limitent les différents sous-groupes.





Fluorescence orange (u.a)

Structure (u.a)

R1= R9+R10+R11	R6= Picoeucaryotes
R2= Prochlorococcus	R7= Picoeucaryotes
R3= Picoeucaryotes	R8= Nanoeucaryotes
R4= TC	R9 = Synechococcus
R5= Billes 2 um	R10+R11= Unidentified


R4 = LNA (Low Nucleic Acid content)

R7 = HNA 1 (High Nucleic Acid content)

R8 = HNA 2

R10 = TC

Figure 7.6: cytogrammes typiques de la résolution des groupes de cellules ultraphytoplanctoniques (A et B) et des cellules procaryotes hétérotrophes (C) . u.a : unité arbitraire.



Photo 7.1: cytomètre analyseur trieur MoFlo DAKO



Photo 7.2 : cytomètre en flux de type FACS Calibur (Becton Dickinson)

Analyses statistiques

Les paramètres de variabilité entre les sites (lagunes, les décharges et les piézomètres) et les mois (avril et novembre) ont été évalués par une analyse de variance à une voie (ANOVA). Une analyse de redondance (RDA) a été réalisée pour définir les effets structurants des sites d'échantillonnage, les périodes de prélèvement ainsi que certains paramètres physiques (Température, pH et conductivité) et chimiques (DCO, DBO5, nitrates, nitrites, azote Kjeldahl, phosphore, fluorures, arsenic, cadmium, chrome, cuivre) sur les procaryotes hétérotrophes (HP) et l'abondance de l'ultraphytoplancton. Les abondances cellulaires ont été normalisées avant l'analyse. Les analyses statistiques sont réalisées sur le logiciel R 2.15.0 (R

Développement Core Team 2012) avec "Vegan" (**Oksanen et al., 2011**) and "Pgirmess" (**Giraudoux, 2012**) packages.

7.3 Résultats

7.3.1 Les conditions environnementales (tableau 7.1)

La température de l'eau varie de façon significative entre les sites de prélèvement (ANOVA, F = 8.49, p < 0.001), mais pas entre les mois. Les plus importantes valeurs de température de l'eau ont été enregistrées dans les lagunes. Le pH varie de façon significative d'avril à novembre (ANOVA, F = 9.73, p = 0.001) mais pas entre les sites. Les valeurs de pH plus importantes ont été détectées en avril. La conductivité varie de façon significative entre les sites (ANOVA, F = 111.37, p < 0.001), mais pas entre les mois. Les valeurs de conductivité les plus importantes ont été enregistrées dans des décharges et les lagunes.

La DCO varie de façon significative entre les sites (ANOVA, F = 16.87, p < 0.001), mais pas entre les mois. Les valeurs les plus importantes de DCO ont été détectées dans les décharges. Le DBO5 varie de façon significative entre les sites (ANOVA, F = 5.76, p = 0.005), mais pas entre les mois. Les valeurs les plus importantes de DBO5 ont été enregistrées dans les lagunes. La concentration en nitrate varie de façon significative entre les sites (ANOVA, F = 20.41, p < 0.001), mais pas entre les mois. Les valeurs les plus importantes ont été observées dans les décharges et les lagunes. La concentration en nitrite varie de façon significative entre les sites (ANOVA, F = 29.65, p < 0.001), et d'avril à novembre (ANOVA, F = 5.36, p = 0.02). Les valeurs les plus importantes ont été enregistrées en novembre dans les décharges et les lagunes. La concentration en azote Kjeldahl varie de façon significative entre les sites (ANOVA, F = 35.27, p < 0.001), mais pas entre les mois. Les valeurs les plus importantes ont été détectées dans les décharges et les lagunes. La concentration en phosphore ne varie pas significativement entre les sites ou entre les mois. La concentration en fluorures varie de façon significative entre les sites (ANOVA, F = 27.51, p < 0.001), mais pas entre les mois. Les valeurs les plus importantes ont été enregistrées dans les décharges et les piézomètres. Les concentrations en arsenic, cuivre, et cadmium ne varient pas significativement entre les sites ou entre les mois (ANOVA, p > 0.5). Seules les valeurs concernant le chrome varient de façon significative entre les sites (ANOVA, F = 4.02, p=0.02), les valeurs les plus importantes ont été détectées dans les décharges.

7.3.2 Procaryotes hétérotrophes

Les procaryotes hétérotrophes (HP) ont été définis en cinq groupes distincts en lien avec l'intensité de leur fluorescence (contenu en acides nucléiques) et l'intensité de la diffusion à 90° (structure, granulosité) : les groupes LNA1, LNA2 et LNA3 avec de faibles contenus en acides nucléiques (LNA : low nucleic acid content), les groupes HNA1et HNA2 présentant de forts contenus en acides nucléiques (HNA : high nucleic acid content) (Figure7.7). Dans les échantillons prélevés dans les piézomètres, le groupe LNA3 contient des cellules dont le signal de taille (diffusion aux petits angles) est supérieur à celui des billes de 2 µm, ce qui les classerait dans les nanohétérotrophes. L'abondance des procaryotes hétérotrophes variait de 2,71 10^5 à 4,16 10^7 cellules cm⁻³ (tableaux 7.2 et 7.3).

Une différence significative dans l'abondance des procaryotes hétérotrophes a été enregistrée entre les sites de prélèvement (analyse de redondance (RDA), F = 6.52, p < 0.001). Cette variabilité spatiale explique 22,48% des changements dans l'abondance des procaryotes hétérotrophes avec l'axe 1 RDA supportant un effet significatif sur cette variabilité (p < 0.05; Figure 7.8).

Les groupes HNA1, HNA2 et LNA2 montrent des scores de RDA proches de 0, indiquant une distribution similaire sur tous les sites d'échantillonnages. Une association claire a été observée entre LNA1 et les lagunes. Le groupe LNA3 se démarque clairement avec un axe1 RDA négatif, et apparaît associé avec les piézomètres du fait de la présence des nanohétérotrophes dans les échantillons prélevés dans les piézomètres.

L'abondance des procaryotes hétérotrophes subit également un changement significatif selon les périodes de prélèvement (RDA, F = 5.97, p = 0.001). La variabilité temporelle explique 11,5% de changements dans l'abondance des procaryotes hétérotrophes avec les axes RDA 1et 2 qui supportent un effet significatif sur cette variabilité (p < 0.05; Figure 7.9). Les groupes HNA1 et HNA2 semblent être associés à l'observation du mois d'avril. Le groupe LNA 2 semble être lié à l'observation de novembre. LNA1, LNA3 et les autres nanohétérotrophes ont été associés à la fois aux observations des mois avril et de novembre.

Des corrélations significatives ont été trouvées entre les abondances des procaryotes hétérotrophes (HP) et les variables physico-chimiques telles que le pH (RDA, F = 6.89, p < 0.001) et les concentrations en fluorure (RDA, F = 4.91, p = 0.008). Les fluctuations physicochimiques expliquent 22.36 % des changements dans l'abondance des procaryotes

hétérotrophes avec seulement l'axe 1 RDA qui soutient un effet significatif sur la variabilité de l'abondance des procaryotes hétérotrophes (p < 0.05; Figure 7.10). Les groupes HNA1 et HNA2 ont des axes RDA 1 et 2 négatifs et sont donc associés à des valeurs de pH élevées. Le groupe LNA1 avec un axe RDA 1 négatif et un axe RDA 2 positif est donc associé à des concentrations élevées en fluorure. Les groupes procaryotes hétérotrophes restants montrent des scores RDA proches de 0 et ne semblent pas présenter une caractéristique spécifique en fonction des conditions environnementales.

Dans la présente étude, la concentration en procaryotes hétérotrophes (HP) variait entre 9,25E+04 et 2,59E+06 cell. cm⁻³ (tableau 7.2) dans la lagune 1 ; 9,03E+04 et 4,53E+05 cell. cm⁻³ dans la lagune 2 ; 1,30E+05 et 7,13E+05 cell.cm⁻³ dans la lagune 3. Les valeurs en aval de la lagune 4 étaient comprises entre 1,04 E+05 et 5,27 E+05 cell. cm⁻³ en avril 2014.

En novembre 2014 (tableau 7.3), la concentration des HP variait entre 3,62E+02 et 1,21 E+06 cell.cm⁻³ dans la lagune 1, entre 1,18 E+02 et 1,54E+05 cell. cm⁻³ en aval de la lagune 2 ; 4,72E+02 et 2,24E+06 cell.cm⁻³ dans la lagune 3 et 1,75 E+04 et 4,49E+06 cell.cm⁻³ dans la lagune 4.

La concentration des HP dans le nouveau casier NC, Gros Pré GP et Mont Bonnet MB a montré une diminution progressive des cellules hétérotrophes en avril et novembre 2014 (tableau 7.2 et 7.3).

Les abondances cellulaires les plus élevées du groupe HNA2 ont été enregistrées en avril 2014 dans PZ 9 et PZ 90 (8,40E+04 cell. cm⁻³) et dans PZ30 5,81E+04 cell. cm⁻³, L'abondance cellulaire la plus élevée du groupe LNA2 était de 9,59 E+05 cell. cm⁻³ dans PZ 9 en novembre 2014.

Les abondances cellulaires du groupe HNA1 dans tous les piézomètres étaient comprises entre 6,54E+04 et 1,23E+07 cell.cm⁻³ en avril 2014 et entre 6,85E+02 et 1,58E+05 cell. cm⁻³ en novembre 2014. Les abondances cellulaires du groupe HNA2 variaient entre 6,93E+04 et 7,62E+06 cell.cm⁻³ en avril 2014, et entre 2,40E+03 et 3,25E+05 cell.cm⁻³ cell. cm⁻³ en novembre 2014.

7.3.3 Ultraphytoplancton

Six groupes d'ultraphytoplanctons ont été définis par cytométrie en flux dans les différents sites d'études (nanoeucaryotes 1 (NE1); picoeucaryotes (PE); nanoeukaryotes 2 (NE2); nanoeukaryotes 3 (NE3); nano-cyanobactéries 1 (NC1); nano-cyanobactérie 2 (NC2)) (Figure 7.11).

La meilleure résolution de ces différents groupes a été réalisée à partir de leurs propriétés de fluorescence rouge et orange. En l'absence d'identification au niveau de l'espèce, des groupes de cellules sont mentionnés par l'étiquette de leur région frontière. Les nano eucaryotes présentent une forte fluorescence rouge et une faible fluorescence orange, avec un signal de taille supérieure à 2 µm (par référence à la taille des billes). Les picoeucaryotes ont des signaux de fluorescence rouge et orange faibles et un signal de taille inférieur à celui des billes de 2 µm. L'abondance de l'ultra phytoplancton variait de $1,6310^4$ à 8,94 10^6 cell. cm⁻³ (Tableaux 7.4 et 7.5). Une différence significative dans l'abondance de l'ultra phytoplancton a été enregistré entre les sites de prélèvement (analyse de redondance (RDA), F = 7.16, p < 0.001). Cette variabilité spatiale explique 27.39 % des changements dans l'abondance des groupes ultraphytoplanctoniques avec seul axe 1 RDA qui soutient un effet significatif sur cette variabilité (p < 0.05; Figure 7.12). Les groupes NE1, NE2, NE3 et PE montrent des scores RDA similaires avec des lagunes indicatives d'une distribution proche. Les groupes NC1 et NC2 se détachent nettement avec un axe 1 RDA positifs et semblent être encore associés à des piézomètres où ces groupes sont particulièrement présents. Les décharges semblent impliquer tous les groupes d'ultraphytoplancton.

L'abondance de l'ultra phytoplancton subit également un changement significatif selon les mois de prélèvement (RDA, F = 7.87, p = 0.001). La variabilité temporelle explique 16,81% des changements dans l'abondance de l'ultraphytoplancton avec les axes RDA 1 et 2 supportant un effet significatif sur cette variabilité (p < 0.05; Figure 7.13). Le groupe NC1 semble être associé à l'observation d'avril. NC2 semble liée à l'observation de novembre. Les groupes NE1, NE2, NE3 et PE étaient liés à la fois aux observations des mois d'avril et de novembre. Les seules corrélations significatives trouvées sont entre l'abondance d'ultraphytoplancton et des paramètres physiques tels que la température (RDA, F = 8.04, p = 0.001) et le pH (RDA, F = 6.91, p = 0.001). Les fluctuations physiques expliquent 29,95% des changements dans l'abondance de l'ultraphytoplancton avec les axes 1 et 2 RDA qui soutiennent un effet significatif sur la variabilité de l'abondance de l'ultraphytoplancton (p <

0.05; Figure 7.14). Le groupe NC1 présente des axes 1 et 2 RDA négatifs, il est donc associé à des valeurs élevées de pH. Les groupes NE1, NE2, NE3 et PE présentent un axe1 RDA négatif et un axe2 RDA positif et sont donc associés à des valeurs élevées de température. Le groupe NC2 fait clairement ressortir un axe1 RDA positif et semble être lié à de faibles valeurs de pH et de température.

L'abondance des nanoeucaryotes (NE) est élevée durant la période d'échantillonnage du mois d'avril puis diminue en novembre. La densité la plus élevée de (NE) est observée pendant la période d'avril 2014 au niveau de la lagune 3, avec une valeur de 5,54E+04 cell. cm⁻³. Les picoeucaryotes (PE) sont présents dans les lagunes pendant toute la période de notre étude. Le maximum d'abondance est enregistré dans la lagune 3 amont avec 6,86E+04 cell. cm⁻³ en avril 2014. La densité la plus faible en PE est enregistrée au mois de novembre avec 9,21 E+03 cell.cm⁻³ dans la lagune 3 (Tableau 7.4). Dans les NC, SC, AD, MB et GP la valeur de PE la plus faible est de l'ordre de 7,99E+02 cell. cm⁻³ observée au niveau de la neaveau casier en novembre (tableau 7.4). Pour tous les piézomètres la densité la plus faible des PE est enregistrée au PZ6 avec 3,65E+02 cell.cm⁻³ en avril et 2,31E+03 cell. cm⁻³ pour PZ9 en novembre 2014. La densité la plus fort de PE est enregistrée dans PZ110 avec 8,31E+02 cell.cm⁻³ dans PZ7 en novembre (Tableaux 7.4 et 7.5). L'abondance des nanocyanobactéries est comprise entre 3,37E+02 et 2,64E+06 cell. cm⁻³ en novembre.

Stations	Mo	DCO	DBO5	(NO3)	(NO2)	Az K	PT "	FI	Ar	Cd "	Chr	Cu "	T	рН	C
L1 Am	A	mg/I 192	mg/I 8	mg/I 13	mg/I 6.54	mg/I 77.7	μg/I 0.59	mg/I 0.17	μg/I 22.4	μg/I 2.9	μg/I 36.5	μg/I 4.8	17.5	8.45	μS/cm 1919
L1 M	А	78	3	14	7,87	, 45,3	0,28	0,16	9,9	1,8	10,3	4,5	16,7	8,39	1564
L1 Av	А	174	40	15	5,43	41,4	0,84	0,16	9,9	1,4	6,3	15,4	17,5	8,48	1047
L2 Am	A	43	3,1	8,3	8,75	6,4	0,15	0,16	4	1,3	4,6	4,5	15,7	8,56	1030
L2 Av	А	107	12	11	0,66	8,3	0,31	0,16	4	1,6	4,1	4,5	19,9	8,44	934
L3 Am	А	45	3,7	7,5	0,85	4,9	0,12	0,16	8,3	1,4	4,3	5,6	15,8	8,51	887
L3 Av	А	57	5,2	5,2	3,42	5,2	0,13	0,16	4,5	1,5	4,8	4,5	15,6	8,34	836
L4 Am	А	48	4	2,4	3,34	5,5	0,14	0,16	4,5	1,5	4,6	4,5	15,8	8,18	815
L4 Av	А	37	3,4	4,3	0,08	5,5	0,12	0,16	4,5	1,4	4,5	4,5	16,4	7,62	810
NC	А	205	9	6,2	3,66	96	0,65	0,16	16	1,5	53,9	4,5	12,6	8,2	2450
SC	А	56	2	15	14,8	28,9	0,16	0,16	18,8	1,2	4,6	4,5	13	8,5	1592
AD	А	93	3	18	7,55	47,3	0,34	0,2	26	1,6	14,6	4,5	11,3	8,7	2073
GP	А	9,6	1,1	-	-	-	-	-	4,5	1,4	1	4,5	10,5	8,13	114
MB	А	11,1	1,5	-	-	-	-	-	4,5	1,5	1	4,5	10,6	8,25	96
Pz2	А	3,8	1	0,37	0,002	0,9	0,02	0,053	4	1,5	1,5	4	10,1	8,5	42
Pz3	А	1,5	0,8	0,09	0,002	0,9	0,06	0,19	17	1,5	3,8	4	11,3	8,56	295
Pz4	А	1,5	0,6	0,65	0,002	0,9	0,009	0,061	4	1,5	1,5	4	10,6	8,13	51
Pz5	А	4,1	3,3	0,09	0,002	0,9	0,009	0,21	5,5	1,5	9	4	11,4	7,41	650
Pz6	А	1,5	4	0,09	0,002	0,9	0,01	0,14	4	1,5	1,5	4	11,4	7,77	256
Pz7	А	1,5	0,7	0,22	0,01	0,9	0,05	0,17	10,6	1,5	6,7	19,6	11,8	8,76	248
Pz8	А	12,8	3,2	0,43	0,002	0,9	0,04	0,04	4	1,5	1,5	4	10,7	7,5	159
Pz9	А	14,6	4	0,6	0,07	1,5	0,02	0,11	4	1,5	3,9	4	10,1	8,16	504
Pz30	А	2,7	0,7	3,1	0,002	0,9	0,03	0,072	4	1,5	1,5	15,6	10,5	8,24	343
Pz40	А	3,8	1,1	0,87	0,002	0,9	0,01	0,086	4	1,5	1,5	4	10,3	7,88	38
Pz70	А	1,5	4	1,6	0,002	0,9	0,06	0,11	4	1,5	1,5	4	12,3	9	179
Pz80	А	1,5	4	0,11	0,002	0,9	0,03	0,054	4	1,5	2,3	4	10,9	7,64	85
Pz90	А	10,4	4	0,15	0,02	1,5	0,03	0,092	5,3	1,5	4,8	5,5	9,6	8,16	466
Pz100	А	1,5	1	0,41	0,002	0,9	0,09	0,081	8,9	1,5	1,5	4	12,2	7,93	455
Pz110	А	3,5	0,5	2,6	0,01	0,9	0,03	0,073	4	1,5	1,5	11	10,6	7,91	412
L1 Am	Ν	115	8	7,4	11	43,3	0,799	0,28	52,5	1	18,4	7,2	13,4	7,48	1571
L1 M	Ν	99	37	7,3	12	32,8	0,12	0,24	4	1	4	4	11,5	7,28	1452
L1 Av	Ν	44	1,1	1,7	23	18	0,12	0,16	8,2	1	4	4	11,5	7,49	968
L2 Am	Ν	30,8	3,2	8,7	21	15,5	0,12	0,16	7,4	1	4	4	11,1	7,6	1089
L2 Av	Ν	30,8	3,2	8,7	21	15,5	0,12	0,16	7,4	1	4	4	11,8	7,68	1042
L3 Am	Ν	34,5	7,5	14	6,8	5,7	0,12	0,16	4	1	4	4	11,1	7,65	963
L3 Av	Ν	90	6	9,2	7,2	6,6	0,12	0,16	4	1	4	4	10,8	7,55	873
L4 Am	Ν	36	2,6	3,7	7,6	2,4	0,12	0,16	4	1	4	4	10,6	7,53	736
L4 Av	Ν	90	3	2	7,4	3	0,12	0,16	4	1	4	4	10,6	7,25	714
NC	Ν	620	6	16	32	81,5	0,664	0,39	5,3	1	45,7	5,1	14,5	7,47	2054
SC	Ν	48	2,5	3,7	22	30,6	0,12	0,2	20,7	1	4	4	13,2	7,58	1207

Tableau 7.1 Les paramètres environnementaux enregistrés dans les différents sites en avril et novembre 2014.

AC	Ν	95	3	4,9	11	44,1	0,13	0,31	6,8	1	8,4	4	14,4	7,28	2030
GP	Ν	12,1	1,2	-	-	-	-	-	4	1	1,5	4	11,2	8,75	241
MB	Ν	14	1,4	-	-	-	-	-	4	1	1,5	4	11,8	9,17	111
Pz2	Ν	3,2	4,4	1,7	0,009	0,6	0,131	0,055	4,5	1,6	2,3	15	11,5	7	67
Pz3	Ν	2,2	1,7	0,51	0,56	0,5	0,525	0,14	46,2	1,9	1,8	6,8	12,7	7,55	243
Pz4	Ν	1,8	0,8	3,4	0,012	0,6	0,019	0,04	4,5	1,7	1,6	4,5	11,8	7,28	56
Pz50	N	1,6	0,5	0,4	0,009	0,8	0,015	0,19	10,5	2,3	1,8	4,5	14,1	6,21	283
Pz6	N	1,7	1,3	0,58	0,01	0,8	0,016	0,098	4,5	1,9	1,4	4,5	10,7	6,59	245
Pz7	N	1,8	0,8	2,6	0,066	0,8	0,709	0,13	11,7	1,8	9	71,2	12,6	6,39	226
Pz8	N	1,5	1	0,4	0,009	0,8	0,107	0,04	13,3	1,4	5,4	8,4	11,3	6,89	187
Pz9	Ν	10,3	4,3	0,4	0,009	3,7	0,01	0,054	5,6	1,6	1,8	4,5	10,6	6,7	604
Pz30	Ν	2,5	1,5	13	0,009	0,7	1,73	0,04	25,3	8,4	61,7	184	11,9	7,51	317
Pz40	Ν	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pz70	N	1,4	0,9	8,1	0,016	0,7	0,629	0,071	7,6	1,6	13,3	52	13	6,2	167
Pz80	Ν	1,6	0,9	0,4	0,009	0,6	0,0723	0,04	7,6	1,8	2,1	4,5	11,2	6,81	302
Pz90	N	10,7	2,6	1,1	1,3	1,5	1,15	0,1	31,7	5,1	35,1	17,5	11,5	6,9	386
Pz100	Ν	1,6	0,9	0,54	0,009	0,8	0,0406	0,05	12,2	1,4	1,6	4,5	13,1	6,58	486
Pz110	Ν	5,1	0,9	11	0,28	0,8	0,026	0,04	4,5	1,6	1,8	22,3	12,6	6,95	403

Chapitre 7 Etude des microorganismes de la décharge d'Etueffont : apport de la cytométrie en flux

Tableau 7.2 L'abondance des procaryotes hétérotrophes et la biomasse observé pendant du premier
prélèvement, d'Avril 2014. HNA: high nucleic acid; LNA: low nucleic acid.

	HNA1	HNA2	LNA1	LNA2	LNA3	TOTAL	TOTAL
							BIOMASS
Lagunes	Cell. cm ⁻³	Cell. cm⁻³	µg cm⁻³				
L1 AMONT							
MILIEU	1,13E+05	9,25E+04	4,78E+05	5,10E+05	1,97E+05	1,39E+06	0,027825
AVAL	1,75E+05	1,52E+05	8,06E+05	2,59E+06	1,99E+06	5,71E+06	0,114285
L2 AMONT	1,34E+05	9,03E+04	2,22E+05	4,35E+05	2,32E+05	1,11E+06	0,022242
MILIEU	-	-	-	-	-	-	-
AVAL	1,34E+05	1,00E+05	2,17E+05	4,53E+05	2,50E+05	1,15E+06	0,023071
L3 AMONT	1,55E+05	1,42E+05	4,60E+05	1,26E+06	1,41E+06	3,42E+06	0,068498
MILIEU	-	-	-	-	-	-	-
AVAL	1,55E+05	1,30E+05	4,69E+05	7,13E+05	2,84E+05	1,75E+06	0,035011
L4 AMONT	-	-	-	-	-	-	-
MILIEU	-	-	-	-	-	-	-
AVAL	1,33E+05	1,04E+05	3,06E+05	5,27E+05	2,43E+05	1,31E+06	0,026265
Nouveau	1,75E+05	1,36E+05	3,66E+05	1,38E+06	1,58E+06	3,64E+06	0,072802
Casier							
Sous-casier	9,13E+04	5,31E+04	1,02E+05	2,80E+05	1,85E+05	7,12E+05	0,014234
Ancienne	1,22E+05	8,67E+04	2,34E+05	4,89E+05	2,41E+05	1,17E+06	0,023443
Décharge							
Gros Pré	1,40E+05	7,77E+04	1,36E+05	2,92E+05	2,16E+05	8,61E+05	0,017212
Mont Bonnet	1,25E+05	8,13E+04	1,76E+05	3,70E+05	2,79E+05	1,03E+06	0,020621
PIEZOMETRES							
PZ2	1,17E+05	1,71E+05	1,87E+06	4,45E+06	3,12E+06	9,72E+06	0,194393
PZ3	1,23E+07	7,62E+06	5,34E+06	1,17E+07	4,71E+06	4,16E+07	0,83266
PZ4	1,37E+05	8,07E+04	7,68E+04	2,73E+05	2,42E+05	8,09E+05	0,016173
PZ50	-	-	-	-	-	-	-
PZ6	1,59E+05	1,79E+05	2,84E+05	2,12E+06	1,99E+06	4,74E+06	0,094708
PZ7	-	-	-	-	-	-	-
PZ8	1,40E+05	8,28E+04	1,53E+05	4,13E+05	3,65E+05	1,15E+06	0,023089
PZ9	1,64E+05	8,40E+04	3,94E+05	2,68E+06	5,29E+06	8,61E+06	0,172223
PZ30	1,38E+05	6,93E+04	2,04E+05	1,34E+06	2,44E+06	4,19E+06	0,083746
PZ40	6,54E+04	1,13E+05	1,54E+06	7,99E+06	1,15E+07	2,12E+07	0,4242
PZ70	1,68E+05	3,52E+05	5,59E+05	1,10E+06	7,56E+05	2,94E+06	0,05876
PZ80	-	-	-	-	-	-	-
PZ90	1,41E+05	8,40E+04	4,97E+05	1,32E+06	2,07E+06	4,12E+06	0,082305
PZ100	1,49E+05	1,02E+05	3,59E+05	1,88E+06	3,04E+06	5,53E+06	0,110581
PZ110	1,25E+05	9,07E+04	6,37E+05	3,69E+06	5,44E+06	9,98E+06	0,199604

	HNA1	HNA2	LNA1	LNA2	LNA3	TOTAL	TOTAL
							BIOMASS
Lagunes	Cell. cm ⁻³	μg C cm ⁻³					
L1 AMONT	1,39E+05	1,32E+05	5,96E+05	1,21E+06	1,06E+06	3,14E+06	0,062871
MILIEU	3,62E+02	5,18E+03	7,85E+04	5,53E+04	1,75E+05	3,15E+05	0,006292
AVAL	3,77E+04	4,20E+04	1,55E+05	6,13E+05	5,21E+05	1,37E+06	0,027383
L2 AMONT	-	-	-	-	-	-	-
MILIEU	-	-	-	-	-	-	-
AVAL	1,18E+02	4,13E+03	6,66E+04	4,67E+04	1,54E+05	2,71E+05	0,005424
L3 AMONT	4,72E+02	3,30E+03	8,14E+04	5,00E+04	1,65E+05	3,00E+05	0,006002
MILIEU							
AVAL	2,54E+05	3,21E+05	1,31E+06	2,24E+06	2,12E+06	6,25E+06	0,124918
L4 AMONT	-	-	-	-	-	-	-
MILIEU	-	-	-	-	-	-	-
AVAL	1,75E+04	2,48E+05	3,90E+06	2,15E+06	4,49E+06	1,08E+07	0,216139
Nouveau	2,61E+05	2,59E+05	1,33E+06	2,57E+06	2,12E+06	6,55E+06	0,130949
Casier							
Sous-casier	1,77E+05	2,11E+05	3,69E+06	3,34E+06	5,32E+06	1,27E+07	0,254799
Ancienne							
Décharge	3,84E+04	3,31E+04	1,77E+05	8,26E+05	8,00E+05	1,87E+06	0,037486
Gros Pré	1,29E+05	1,62E+05	4,78E+05	0,00E+00	3,81E+06	4,58E+06	0,091632
Mont Bonnet	4,72E+02	2,95E+03	1,05E+05	5,26E+04	1,92E+05	3,54E+05	0,007077
PIEZOMETRES							
PZ2	1,50E+05	3,04E+05	4,67E+05	2,49E+06	3,25E+06	6,65E+06	0,133066
PZ3	-	-	-	-	-	-	-
PZ4	2,67E+04	3,25E+05	4,65E+05	4,01E+06	4,08E+06	8,91E+06	0,178182
PZ50	4,54E+04	3,24E+04	2,09E+05	8,88E+05	9,11E+05	2,09E+06	0,041707
PZ6	1,43E+05	2,83E+05	3,76E+05	2,33E+06	2,72E+06	5,84E+06	0,116885
PZ7	6,85E+02	2,40E+03	1,14E+05	1,53E+05	3,13E+05	5,83E+05	0,011652
PZ8	1,36E+05	1,34E+05	3,06E+05	2,03E+06	2,58E+06	5,18E+06	0,103656
PZ9	4,35E+04	4,23E+04	1,38E+05	9,59E+05	7,55E+05	1,94E+06	0,038744
PZ30	1,26E+05	5,81E+04	1,78E+05	2,40E+06	9,48E+05	3,71E+06	0,074238
PZ40	-	-	-	-	-	-	-
PZ70	4,15E+04	2,06E+04	4,44E+04	2,61E+05	2,11E+05	5,79E+05	0,011572
PZ80	4,78E+04	3,70E+04	1,05E+05	1,03E+06	7,65E+05	1,98E+06	0,039685
PZ90	-	-	-	-	-	-	-
PZ100	1,58E+05	2,40E+05	5,06E+05	2,89E+06	3,89E+06	7,69E+06	0,15377
PZ110	1,44E+05	2,45E+05	5,68E+05	2,24E+06	3,66E+06	6,85E+06	0,137012

Tableau 7.3 : L'abondance des procaryotes hétérotrophes et la biomasse observée au cours du deuxième échantillonnage de novembre 2014. HNA: high nucleic acid; LNA: low nucleic acid.

Tableau 7.4 : Abondances ultraphytoplanctoniques observées au cours du premier échantillonnage d'avril 2014. NE: nanoeukaryotes; PE: picoeukaryotes; NC: nanocyanobacteria.

	NE1	PE	NE2	NE3	NC1	NC2
Lagunes	Cell. cm ⁻³					
L1 AMONT	7,50E+02	3,19E+04	2,39E+03	4,66E+02	5,60E+04	1,09E+05
MILIEU	1,76E+03	3,43E+04	6,24E+03	4,11E+02	1,09E+04	3,12E+04
AVAL	-	-	-	-	-	-
L2 AMONT	3,62E+04	2,96E+04	5,64E+03	3,57E+03	5,86E+03	1,45E+04
MILIEU	-	-	-	-	-	-
AVAL	3,28E+04	3,73E+04	7,92E+03	2,90E+03	8,14E+03	1,70E+04
L3 AMONT	5,54E+04	6,86E+04	8,62E+03	2,68E+03	6,08E+03	2,31E+04
MILIEU	-	-	-	-	-	-
AVAL	5,00E+04	3,15E+04	7,02E+03	2,21E+03	7,16E+03	1,18E+04
L4 AMONT	2,15E+04	5,02E+04	4,77E+03	3,10E+03	5,48E+03	5,60E+04
MILIEU	-	-	-	-	-	-
AVAL	2,49E+04	5,58E+04	7,56E+03	4,34E+03	3,77E+03	1,14E+04
Nouveau	3,45E+03	1,15E+05	7,71E+03	1,22E+03	6,65E+04	1,86E+05
Casier						
Sous-casier	-	-	-	-	-	-
Ancienne	1,57E+03	5,70E+04	4,38E+03	2,93E+02	9,80E+03	9,00E+03
Gros Pré	1.01F+02	2.54F+03	7.10F+02	1.22F+02	9.41F+03	1.03F+04
Mont Bonnet	3 65E+02	2 29F+03	3 65E+02	4 66F+02	8 78F+03	1 30F+04
PIEZOMETRES	0,002.02		0,002.02	.,	0,702700	
P72	3.65F+01	6.04F+02	1.34F+02	2.84F+01	8.48F+03	2.19F+04
P73	8.11E+02	4.22E+04	6.08E+02	0.00E+00	7.04E+04	5.86E+05
P74	1.01F+02	1.01F+03	1.22F+02	0.00F+00	2.78F+03	1.23F+04
PZ50	-	-	-	-	-	-
P76	0.00E+00	3.65E+02	1.42E+02	4.06E+01	3.75E+03	6.58E+04
PZ7	9.39E+03	2.21E+05	7.63E+03	5.87E+02	1.11E+06	7.60E+06
P78	5.87E+01	1.02E+03	1.17E+02	1.96E+01	2.37E+03	1.54E+04
P79	4.06E+02	2.07E+04	1.83E+03	2.03E+02	5.50E+05	5.33E+05
P730	3.24E+02	1.49E+04	2.25E+03	2.84E+02	1.05E+06	0.00E+00
P740	2.54E+03	6.44E+04	6.26E+03	9.78E+02	1.25E+06	1.46E+06
PZ70	3.52E+02	2.66E+03	2.35E+02	1.96E+01	3.28E+04	6.11E+04
P780	0.00F+00	2.07F+04	1.76F+03	0.00F+00	4.05F+05	1.13F+06
PZ90	1.96E+02	4.40E+03	3.52E+02	3.91E+01	4.07E+04	9.62E+04
PZ100	2.03E+02	5.19E+03	3.85E+02	4.06E+01	3.89E+04	2.01E+04
PZ110	2,03E+01	8,31E+02	4,06E+01	2,03E+01	2,03E+01	5,78E+04

Tableau 7.5 Abondances ultraphytoplanctoniques observées au cours du deuxième échantillonnage de novembre 2014. NE: nanoeukaryotes; PE: picoeukaryotes; NC: nanocyanobacteria.

	NE1	PE	NE2	NE3	NC1	NC2
Lagunes	Cell. cm ⁻³	Cell. cm⁻³				
L1 AMONT	-	-	-	-	-	-
MILIEU	5,99E+03	4,83E+04	3,28E+03	1,79E+03	1,69E+04	2,64E+06
AVAL	1,03E+03	2,22E+04	2,22E+03	3,64E+02	3,64E+02	2,08E+04
L2 AMONT	-	-	-	-	-	-
MILIEU	-	-	-	-	-	-
AVAL	7,36E+02	9,21E+03	1,43E+03	1,45E+03	2,48E+04	1,93E+06
L3 AMONT	2,40E+03	1,14E+04	3,09E+03	3,58E+03	2,59E+04	1,08E+06
MILIEU						
AVAL	1,16E+03	2,79E+04	4,92E+03	5,89E+02	3,37E+02	1,11E+04
L4 AMONT	6,56E+03	6,63E+04	6,69E+03	1,26E+03	7,15E+02	1,30E+04
MILIEU	-	-	-	-	-	-
AVAL	-	-	-	-	-	-
Nouveau	8,41E+01	7,99E+02	0,00E+00	4,21E+01	0,00E+00	6,42E+04
Casier						
Sous-casier	2,73E+02	4,48E+03	5,47E+02	8,41E+01	0,00E+00	3,55E+04
Ancienne						
Décharge	2,02E+01	8,09E+02	4,04E+01	2,02E+01	2,57E+04	2,30E+04
Gros Pré	-	-	-	-	-	-
Mont Bonnet	2,94E+02	1,47E+04	4,44E+03	1,89E+03	5,69E+04	3,92E+06
PIEZOMETRES						
PZ2	-	-	-	-	-	-
PZ3	-	-	-	-	-	-
PZ4	-	-	-	-	-	-
PZ50	0,00E+00	2,50E+03	1,05E+02	0,00E+00	0,00E+00	6,58E+04
PZ6	-	-	-	-	-	-
PZ7	1,89E+02	6,12E+03	4,21E+02	2,10E+01	4,12E+03	1,13E+05
PZ8	-	-	-	-	-	-
PZ9	6,31E+01	2,31E+03	1,05E+02	2,10E+01	2,10E+01	1,77E+05
PZ30	-	-	-	-	-	-
PZ40	-	-	-	-	-	-
PZ70	0,00E+00	2,86E+03	4,21E+01	0,00E+00	0,00E+00	1,85E+05
PZ80	2,10E+01	4,77E+03	2,52E+02	4,21E+01	0,00E+00	1,12E+05
PZ90	-	-	-	-	-	-
PZ100	-	-	-	-	-	-
PZ110	-	-	-	-	-	-



Figure 7.7: Résolution de groupes de procaryotes hétérotrophes par cytométrie en flux après marquage au SYBR Green, à partir de cytogrammes représentant la fluorescence verte (intensité liée au contenu en acides nucléiques) en fonction de la diffusion latérale (intensité liée à la structure cellulaire). R5: HNA1; R6 : HNA2; R7 : LNA1; R10: LNA2 ; R9 : LNA3.autres picohétéretrophes; R10: LNA2 Dans les échantillons prélevés dans les piézomètres, la fenêtre R9 contient des cellules dont le signal de taille (diffusion aux petits angles) est supérieur à celui des billes de 2 µm, ce qui les classerait dans les nanohétérotrophes.. a.u. : unité arbitraire.



Figure 7.8 : analyse de redondance (RDA) de l'abondance des assemblages de procaryotes hétérotrophes en relation avec les piézomètries, la décharge et les lagunes. Les valeurs propres des deux premiers axes sont indiquées par $\lambda 1$ et $\lambda 2$.



Figure 7.9 : analyse de redondance (RDA) de l'abondance des assemblages de procaryotes hétérotrophes en relation avec les périodes d'échantillonnage (avril et novembre). Les valeurs propres des deux premiers axes sont indiquées par $\lambda 1$ et $\lambda 2$.



Figure 7.10 : analyse de redondance (RDA) de l'abondance des assemblages de procaryotes hétérotrophes abondances en relation avec les fluorures et pH. Les valeurs propres des deux premiers axes sont indiquées par $\lambda 1$ et $\lambda 2$.



Figure 7.11: Résolution des groupes d'ultraphytoplanctons par cytométrie en flux à partir de cytogrammes représentant la fluorescence rouge en fonction de la fluorescence orange. **R3** : billes Trucount (Becton Dickinson); **R4** : billes 2 μm; **R5** : nanoeucaryotes 1; **R6**: picoeucaryotes; **R7** : nanoeucaryotes 2 ; **R8** : nanoeucaryotes 3 ; **R10**: nanocyanobactéries 1 ; **R11**: nanocyanobactéries 2. a.u.: unité arbitraire.



Figure 7.12 : analyse de redondance (RDA) de l'abondance des assemblages des groupes d'ultraphytoplanctons en relation avec les piézomètres, la décharge et les lagunes. Les valeurs propres des deux premiers axes sont indiquées par $\lambda 1$ et $\lambda 2$.



Figure 7.13 : analyse de redondance (RDA) de l'abondance des assemblages des groupes d'ultraphytoplancton en relation avec les périodes d'échantillonnage (avril et novembre). Les valeurs propres des deux premiers axes sont indiquées par $\lambda 1$ et $\lambda 2$.



Figure 7.14 : analyse de redondance (RDA) de l'abondance des assemblages des groupes d'ultraphytoplancton en relation avec la température et le pH. Les valeurs propres des deux premiers axes sont indiquées par $\lambda 1$ et $\lambda 2$.

7.4 Discussion

Procaryotes hétérotrophes

Des conditions environnementales qui impactent l'abondance (> 4 107 cm³ cell., tableau 7.2) de procaryotes hétérotrophes ont été observées dans les différents sites d'échantillonnage, avec des niveaux d'abondance semblables à ceux observés dans des milieux eutrophes (Andrade et al., 2003; Torréton et al., 2007), et beaucoup plus élevés que ceux rapportés pour les eaux oligotrophes (Andrade et al., 2003; Martin et al., 2005; Martin et al., 2008).

Chaque groupe de procaryotes hétérotrophes présente une distribution différente selon les sites, le temps et les conditions environnementales. La variabilité spatio-temporelle accompagnée de fluctuations physico-chimiques a expliqué plus de 56% de la distribution des groupes de procaryotes hétérotrophes. En effet, les groupes HNA1 et HNA2 ont été trouvés sur tous les sites (lagunes, décharges et piézomètres), mais surtout pendant l'observation d'avril. Cette distribution est principalement liée à des valeurs élevées de pH au cours de cette période. Le groupe LNA1 a principalement été trouvé dans les lagunes au cours des mois d'avril et de novembre 2014. Cette distribution est liée aux fortes concentrations en fluorure enregistrées au niveau des lagunes. Le groupe LNA2 a été retrouvé dans toutes les stations en particulier durant les observations du mois de novembre, mais sans relation spécifique avec des paramètres environnementaux évalués au cours de cette étude. Les nanohétérotrophes ont été détectés au cours des mois d'avril et de novembre essentiellement dans les piézomètres. Cette distribution n'a pas été liée à des paramètres environnementaux évalués au cours de cette étude (voir figure 7.10).

Ultraphytoplancton

L'ultraphytoplanctons était dominé par la classe de $(2-20 \ \mu m)$ dans laquelle 5 groupes ont été résolus. Le groupe des nano-cyanobactéries est particulièrement abondant. Il y a probablement des espèces spécifiques d'eau douce, favorisée par l'eutrophisation. D'autre part, il n'y a pas de picocyanobactérie (comme *Synechococcus*) ce qui est indicatif d'environnements eutrophes, riches en éléments nutritifs. Dans les milieux océaniques oligotrophes, les procaryotes photosynthétiques, représentés principalement par le genre *Synechococcus* et *Prochlorococcus*, sont les contributeurs majeurs à la biomasse et à la production primaire (**Partensky et al., 1999**). Chaque groupe d'ultraphytoplancton présente une distribution différente selon les sites, le temps et les conditions environnementales. La variabilité spatio-temporelle ainsi que les fluctuations physiques expliquent plus de 73% des

distributions des groupes d'ultraphytoplancton. En effet, les groupes NE1, NE2, NE3 et PE ont été observés durant les mois d'avril et de novembre, notamment dans les lagunes. Cette distribution était principalement liée à la température élevée de l'eau toujours enregistrée au niveau les lagunes. Le groupe NC1 spécialement trouvé dans les piézomètres lors de l'observation d'avril pourrait être lié aux valeurs élevées de pH au cours de cette période. La présence importante du groupe NC2 au niveau des piézomètres pendant l'observation du mois de novembre serait quant à elle liée à de faibles valeurs de pH au cours de cette période et à la faible température de l'eau au niveau des piézomètres (Figure 7.14).

Le phytoplancton représente, de par son activité de photosynthèse, l'acteur initial et fondamental de synthèse de la matière organique dissoute et particulaire (Garnier et Barillier, 1991), lui conférant une place fondamentale à la base des réseaux trophiques planctoniques.

La cytométrie en flux est une technique permettant d'analyser individuellement et rapidement des milliers de cellules en suspension sur la base de leurs propriétés de diffusion et de fluorescence. De fait, cette approche est plus précise et rapide que le comptage par microscopie (Monger et Landry, 1993; Joachimsthal et al., 2003).

L'utilisation de la cytométrie de flux en écologie microbienne aquatique a permis de faire progresser notre connaissance de la structure des assemblages du phytoplancton (**Olson et al., 1993**). Fondé sur cette analyse, le phytoplancton est généralement divisé en cyanobactéries (*Synechococcus, Prochlorococcus*) et cellules eucaryotes. Le genre *Synechococcus* possède de la phycoérythrine (PE) et permet la distinction avec le genre *Prochlorococcus*, pourtant similaires en taille, mais ne produisant pas la fluorescence «orange» typique de la phycoérythrine. Les organismes eucaryotes du phytoplancton, peuvent être différenciés par leurs propriétés de diffusion (taille, structure), l'intensité de la fluorescence rouge (contenu en chlorophylle *a*) et la présence de pigments accessoires comme chez les cryptophytes.

La température de l'eau est un paramètre important et essentiel dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques, et dépend de l'ensoleillement et des échanges avec l'atmosphère. La fluctuation de la concentration du phytoplancton observée au niveau des lagunes 1 à 4 au cours de notre étude, dépend de plusieurs facteurs, comme :

- les variations de la température et la durée du jour.

- la composition du lixiviat et son entrée dans le bassin, qui peut alimenter ce dernier en nutriments organiques et minéraux capables d'induire la prolifération du phytoplancton.

- la pression de broutage exercée par le zooplancton sur phytoplancton qui provoque le déclin de la biomasse des algues dans les couches de surface les différents paramètres structurels des 4 bassins (**Khattabi et al., 2005**).

Conclusion

L'objectif de ce chapitre était de fournir une description qualitative et quantitative de la communauté des procaryotes hétérotrophes et de l'ultraphytoplancton présentes au niveau de la décharge, des lagunes et des piézomètres de la décharge d'Etueffont :

- de montrer l'apport de la cytométrie en flux.
- de tenter de définir les effets structurants des sites d'échantillonnage.
- De souligner l'influence de la période d'observation (avril et novembre 2014), des principaux paramètres physiques (température, pH et conductivité) et chimiques (DCO, DBO5, nitrates, nitrites, azote Kjeldahl, phosphore, fluorures, arsenic, cadmium, chrome, cuivre) sur l'abondance des procaryotes hétérotrophes et de l'ultraphytoplancton.

Dans L1 très peu de phytoplancton eucaryotes. Essentiellement deux groupes de cellules de type nanocyanobactéries, très peu présentes dans les autres prélèvements. Les nanoeucaryotes constituaient un groupe bien défini et présent dans la majorité des échantillons (hors piézomètres), dans GP MB et NC, très peu de cellules autotrophes en avril et novembre 2014.

Dans les piézomètres, seuls les groupes de nanocyanobactéries étaient fortement représentés.

Les analyses ont porté sur les populations ultraphytoplanctoniques qui appartiennent à la classe de taille 0-10 μ m. La résolution de chaque assemblage a été réalisée à partir de leurs signaux de fluorescence rouge-orange et de leurs caractéristiques de diffusion de la lumière. L'analyse multivariée des enregistrements cytométriques effectuée à l'aide du logiciel SUMMIT (DAKO) permet de distinguer les différents groupes de cellules sur la base de leurs propriétés optiques, essentiellement la fluorescence rouge et orange et la diffusion (signaux de taille et de structure).

Dans la répartition classique HNA-LNA, deux groupes de HNA sont différentiés par la structure cellulaire (*side scatter*) ainsi que trois groupes de LNA. Ce troisième groupe de LNA, plus diffus, comportait aussi dans les piézomètres, des cellules dont les signaux de structure et de fluorescence (contenu en acides nucléiques) étaient voisins mais dont le signal de taille était nettement plus important, les rattachant aux nanohétérotrophes.

Les plus importantes valeurs de température et DBO5 de l'eau ont été enregistrées dans les lagunes. Les valeurs de pH les plus importantes ont été détectées au cours de la période d'observation du mois d'avril. Les valeurs de conductivité les plus importantes ont été enregistrées dans la décharge et les lagunes. Les valeurs de nitrate et d'azote Kjeldahl les plus importantes ont été détectées dans la décharge et les lagunes. Les valeurs de concentration en nitrites les plus importantes ont été enregistrées dans la décharge et les lagunes pendant l'observation du mois de novembre. Les plus importantes valeurs de fluorures ont été enregistrées dans la décharge et dans les piézomètres. Les valeurs les plus importantes de DCO, arsenic, cuivre, cadmium et chrome ont été détectées dans les décharges.

Chapitre 8

Étude de la bioaccumulation des éléments traces métalliques dans le Chironome (*Chironomus riparius*)

8.1 Introduction

La population humaine, de par son fort potentiel d'accroissement, est sujette à une augmentation démographique constante. À l'échelle mondiale, entre 1997 et 2007, le taux d'accroissement de la population fut de 1,3% pour atteindre 6, 675 milliards d'habitants à l'aube de l'an 2008 (WHO). En France, le taux d'accroissement de la population a atteint 4% entre 2004 et 2010, amenant le nombre d'habitants sur le territoire à dépasser le seuil des 65 millions (INSEE).

Durant la même période, la production de déchets s'est elle aussi sensiblement accrue, passant de 297 millions de tonnes à 355 millions de tonnes, soit près de 20 % d'augmentation. Malgré les différents cadres législatifs qui tendent à réguler la production et à favoriser la valorisation des déchets (DirecMve Cadre sur les Déchets 2008), la production de ces derniers s'accroît en moyenne de 1% par an (Haeusler et al., 2014). Le Code de l'environnement (article L541-1), définit les déchets comme étant "tout résidu issus d'un processus de production, de transformation ou d'utilisation, toute substance, matériau, produit [...] abandonné ou que son détenteur destine à l'abandon". Ainsi, les principaux secteurs producteurs de déchets, le bâtiment, l'industrie et les ménages, produisent respectivement, 260 ; 62 et 30 millions de tonnes de déchets par an (résidus agricoles réutilisés sur les exploitations exclus). La somme des secteurs évoqués produisent différents types de déchets dont la nomenclature a été définie par le règlement CE 2150/2002 relatif aux statistiques sur les déchets. Il comprend les déchets dangereux (11,5 millions de tonnes), les déchets minéraux non dangereux inertes (254 millions de tonnes), les déchets organiques (hors déchets de l'agriculture et de la pêche : 47 millions de tonnes) ou déchets fermentescibles et les déchets non dangereux (45.5 millions de tonnes).

Les déchets dits ménagers, bien qu'inscrits dans la catégorie des « déchets non-dangereux », sont susceptibles de constituer, lorsqu'ils sont soumis à l'enfouissement (autorisé jusqu'en 2002), des vecteurs de contamination environnementale. Il existe en effet deux grandes sources de nuisances environnementales issues des réactions de dégradation qui se déroulent au sein des centres de stockage des déchets : la formation de biogaz et de lixiviats (**Slack et al., 2005 ; Matejczyk et al., 2011**). Les lixiviats, liquides chargés de métabolites issue de la dégradation des déchets sont à l'origine de problèmes sanitaires pour de nombreuses espèces tributaires de la qualité des sols, des eaux souterraines et de surface (**Bialowiec et al., 2010; Matejczyk et al., 2011** et références associées). De nombreux auteurs soutiennent ces dires,

notamment en raison de la forte charge en différentes substances susceptibles d'être contenues dans les lixiviats. Il s'agit en particulier des éléments traces métalliques (ETM), tels que le Cadmium (Cd), le Chrome (Cr), le Cuivre (Cu), le Fer (Fe), le Mercure (Hg), le Manganèse (Mn), le Nickel (Ni) et le Plomb (Pb) (Olivero-Verbel et al., 2008 ; Hernández et al., 2012) mais aussi des polluants organiques (HAP, composés aliphatiques chlorés, phénols, phtalates) (Baun et al., 2003 et 2004 ; Kulikowska and Klimiuk, 2008) et des insecticides tels que le Lindane (Hernández et al., 2012). De plus, Urase et al., 1997 ont indiqué que même dans le cas où les effluents respectent les normes établies par l'arrêté du 9 septembre 1997 et du 19 Janvier 2006, ces derniers représentent une des principales sources d'apport d'ETM dans l'environnement. La caractérisation, la surveillance et l'épuration des lixiviats est donc primordiale dans le but de prévenir et gérer les contaminations du milieu naturel (Koerner et al.; 2000 and Al-Yaqout et al.; 2003 ; Al-Wabel et al., 2011). En effet, ces effluents constituent une source d'exposition importante, en particulier pour les organismes aquatiques, pouvant conduire selon différentes sources (eau, sédiments) et voies (tégumentaire, digestive) d'exposition au transfert, à la bioaccumulation, voire à la biomagnification des ETM dans les réseaux trophiques (Bortolotto et al., 2009; Sang et al., 2010 ; Matejczyk et al., 2011). En France, suite à une prise de conscience collective et l'établissement de la loi du 13 juillet 1992, relative à l'élimination des déchets, le 1er Juillet 2002, les pollutions induites par lixiviation au travers de centres de stockage des déchets font l'objet d'une surveillance accrue (suivi de la qualité des lixiviats, mesures de débit, de la DBO, DCO...). Ainsi depuis 2002, seul le stockage des déchets dits "ultimes" est autorisé (déchets ayant au préalable subit divers traitements visant à les valoriser : en termes de production énergétique et de recyclage notamment). Depuis cette date, le dépôt d'ordures ménagères « brutes » est interdit afin de favoriser la mise en place de filières de valorisation. Depuis l'apparition de la législation interdisant l'enfouissement des déchets ménagers, la gestion, la surveillance et les impacts environnementaux liés aux phénomènes de lixiviation qui se déroulent au sein des sites de stockage, incombent aux gestionnaires, et ce pendant les trente années qui suivent la fermeture des sites. Compte-tenu du fort potentiel de contamination environnementale induite par les décharges, l'évaluation des risques sur ces sites se doit d'être réalisée par le biais de méthodes de monitoring chimique, écotoxicologique et microbiologique afin d'alimenter les bases de données concernant les substances dangereuses (Directive 2008/105/EC) (Matejczyk et al., 2011). La contamination d'un milieu est susceptible d'engendrer des effets sub-létaux non discernables à court terme sur la structure des populations et communautés. Ainsi, des investigations au niveau individuel son nécessaires afin de mettre en évidence ces effets (Admiraal et al., 2000).

Parmi les méthodes d'évaluation des risques environnementaux existantes, nous avons retenu une approche par bioindication active qui consiste à exposer *in situ* des organismes naïfs issus du laboratoire. Le modèle biologique choisi ici est un hexapode diptère, le chironome (*Chironomus riparius*) et plus particulièrement sa forme larvaire dont le développement a lieu à l'interface sédiment-eau. L'objectif de cette étude est ainsi d'évaluer la biodisponibilité et le transfert des ETM dans un bassin recueillant les lixiviats bruts de la décharge d'Etueffont (90). La biodisponibilité est susceptible d'être définie à différentes échelles. Ainsi, la biodisponibilité environnementale correspond à la fraction assimilable d'une substance par les organismes vivants tandis que la biodisponibilité toxicologique correspond à la part de cette fraction assimilée qui parvient à atteindre les sites d'action toxique à l'intérieur de l'organisme. Les objectifs de cette étude seront donc i) de définir le degré de biodisponibilité en ETM issu de l'écoulement des jus de décharge, et ii) de déterminer la part de ces ETM accumulée au sein de C. riparius qui présente un réel potentiel toxique. L'action des ETM sur les molécules cibles de l'organisme se déroulant essentiellement au sein de la fraction cytosolique (Wang et al., 1999; Perceval et al., 2006 In Péry et al., 2008), il sera donc question ici de modéliser les cinétiques d'accumulation en ETM au sein de C. riparius et d'observer leur répartition entre fraction cytosolique et insoluble.

8.2 Matériels & méthodes

8.2.1 Matériel biologique

a. Chironomus riparius

Les Chironomidae sont des insectes (pancrustacés hexapodes) du groupe des diptères dont les larves se développent dans les milieux aquatiques. Avec plus de 5000 espèces, dont plus de 600 ont été répertoriées en France, c'est le groupe des insectes le plus représenté dans les eaux douces.

Dans le cadre de cette étude, l'évaluation de la biodisponibilité et du potentiel de transfert des ETM sera réalisée par une méthode de bioindication active à l'aide de larves de *Chironomus riparius*. Ce détritivore nématocère de la famille des Chironomidae, représentée par plus de 130 genres subdivisés en sous-genres et en guilde d'espèces, est caractérisé par une valence

écologique assez large (**Armitage et al., 1995; In Vogt et al., 2007**). Et correspond d'une pièce basale du réseau trophique basé détritivore (**Bervoets et al., 2004**).

les Chironomidae représentent une source de nourriture pour de nombreuses espèces animales (espèces piscicoles telles que le gardon, larves d'aeschnes, oiseaux aquatiques...) (Van de Bund et al., 1994; Rieradevall et al., 1995). Considéré par de nombreux auteurs comme étant un modèle biologique de référence dans le cadre d'études écotoxicologiques (Ducrot et al., 2004) et ce notamment pour le suivi des métaux (Tilghman et al., 2009), l'utilisation des Chironomidae présente de nombreux avantages pratiques (ex., facilité d'élevage, facilité de manipulation, cycle de vie relativement court, bonne polluo-tolérance...) (Ducrot et al.; 2004).

Ainsi, des bioessais d'écotoxicité aigüe ou chronique utilisant des larves de chironome ont été normalisés à l'échelle internationale pour différents stades de développement (OCDE 218, 219, 233, 235). En effet, le cycle de vie de *C. riparius*, décrit en (Figure 8.2), se divise, après éclosion des masses d'œufs, en 4 phases larvaires (dont la première est pélagique et les trois suivantes benthiques), un stade nymphal à nouveau pélagique et un stade aérien représenté par un diptère hexapode (**Olivier 1971 ; In Vogt et al., 2007**).

L'utilisation de ces organismes au 4ème (et dernier) stade larvaire présente deux avantages majeurs : i) l'absence de mue susceptible de modifier la physiologie de l'animal durant la période d'exposition et ii) l'acquisition d'une biomasse suffisante pour les mesures (longueur, masse) des organismes et les analyses des concentrations en ETM. Un autre avantage dans l'utilisation de ce macro-invertébré benthique en bioindication réside dans le fait que la majorité de son cycle de vie (larvaire) se déroule à l'interface eau/sédiment. Il intègre donc ces deux sources de contaminations potentielles.

En milieux naturels, le cycle vital est généralement annuel ou semestriel. En conditions optimales d'élevage et pour l'espèce la plus fréquemment utilisée en bioessais et tests toxicologiques, *Chironomus riparius*, le cycle complet est de 21 jours.

Chapitre 8 Étude de la bioaccumulation des éléments traces métalliques dans le Chironome *Chironomus riparius*



15j

Figure 8.1 : cycle de vie des Diptères Chironomidae et durée des quatre stades biologiques en conditions contrôlées optimales de développement pour l'espèce *Chironomus riparius*. D'après Oliver, 1971.

Les *Chironomidae* colonisent tous les milieux aquatiques lotiques (avec de forts courants) ou lentiques (avec de faibles courants), permanents ou temporaires. Les larves se développent en contact étroit avec les substrats constituant les fonds des écosystèmes aquatiques (organismes benthiques), parfois même en s'enfouissant à l'intérieur des substrats meubles tels les sédiments (espèces endopéliques). De nombreuses espèces présentent également des exigences écologiques faibles (espèces euryèces) vis-à-vis de facteurs environnementaux comme la température, l'oxygénation des eaux ou les teneurs en matière organique.

Les différentes espèces de *Chironomidae* appartiennent à tous les niveaux des consommateurs : phytophages brouteurs ou collecteurs de microalgues, détritiphages mangeurs de sédiments et prédateurs. Selon leur niveau trophique, les espèces présentent des capacités de bioaccumulation des polluants dans leurs tissus plus ou moins importantes dont vont également dépendre les réponses aux différentes pollutions toxiques. Les larves sont également des proies pour de nombreuses autres espèces de macroinvertébrés et de poissons et constituent donc des vecteurs de molécules toxiques pour les niveaux trophiques supérieurs (**Ferrington, 2008**).

b. Obtention des larves

Les masses d'œufs sont prélevées sur les parois de l'élevage (ANNEXES : Enceinte d'élevage) et placées en pilulier jusqu'à éclosion (48 à 72 heures). Les larvules synchrones (stade I) sont alors placées en nurseries dans des cristallisoirs en pyrex® (2 L). Après une semaine (20°C, alimentation à l'avoine), les larves sont assez grandes (stade 2 à 3) pour être triées et placés par 20 individus en bécher (section = 56.74 cm² et volume V = 946 ml) contenant une épaisseur de 1 cm de sable humide (= 135 g) et 700 ml d'eau. Les larves sont ensuite nourries *ad* libitum à raison de 1,2 mg d'avoine par larve et par jour. Après une semaine, les larves ont atteint le stade IV et sont alors prêtes pour être encagées in situ.

8.2.2 Dispositifs d'exposition

Les larves de *C. riparius* ont été exposées par déploiement de deux types de cages (Figure 8.3) : le modèle SWISS (**Ferrari et al., 2014**), planté dans le sédiment et offrant une double exposition sédiments et eau et le modèle CTRL, contenant du sable « propre » et limitant donc l'exposition des organismes à la colonne d'eau et aux particules en suspension. Quinze cages de chaque type, contenant 20 larves de *C. riparius* (stade 4), ont été disposées au sein du premier bassin (la lagune avec les filtres) de collecte des effluents de l'ancienne décharge au début de l'expérimentation. Durant cinq jours, du 08/03/2015 au 13/03/2015, trois cages (triplicat) de chaque type ont été prélevées quotidiennement (approche cinétique) et rapportées au laboratoire pour y effectuer des prélèvements d'eau, de sédiments et récupérer les larves introduites. Ces dernières sont alors rincées à l'eau ultrapure, dénombrées, mesurées individuellement et pesées avant d'être sacrifiées par congélation à -20°C. A t1, t3 et t5, des prélèvements de particules (Figure 8.3 b).

Chapitre 8 Étude de la bioaccumulation des éléments traces métalliques dans le Chironome *Chironomus riparius*



Figure 8.2 : a) systèmes d'exposition des larves de *C. riparius*; CTRL (à droite) SWISS (à gauche). b) Plan d'échantillonnage appliqué au premier bassin de collecte des lixiviats de décharge; Cages CTRL (cercles bleus), Cages SWISS (cercles rouges), pièges à MES (cercles noirs).

8.2.3 Fractionnement des larves

Le fractionnement débute par le broyage (1 minute par échantillon à l'aide d'un homogénéiseur ULTRA-TURRAX®) des larves récupérées dans une solution de 2 ml de tampon Tris-HCl (20 mM) (entre chaque échantillon, la lame de l'homogénéiseur a été rincée à l'aide d'1 ml de tampon afin d'optimiser la récupération du matériel biologique). Après prélèvement d'un aliquot d'1 ml pour déterminer la concentration totale (H), l'homogénéisat est ensuite centrifugé (1h à 4°C, 25000g) (Péry et al., 2008 ; Gimbert et al., in prep.) afin de séparer deux fractions ; la fraction insoluble (exosquelette, contenu du tube digestif, débris cellulaires) représentée par le culot ou pellet (P) et la fraction soluble (cytosol total) représentée par le surnagent (S).

8.2.4 Analyses chimiques

Les échantillons provenant des prélèvements d'eau et de sédiments (lyophilisés) ont été regroupés par jour et ceux de MES (lyophilisés) assemblés en un seul échantillon composite sur la durée totale de l'exposition (du fait des très faibles quantités de matière). Ainsi, les différentes fractions, les prélèvements de MES et de sédiments effectués au sein du bassin ont été minéralisés au Digiprep (Block digestion system) à l'aide d'acide nitrique (HNO₃ Optima, ultra-trace, pureté 99,9 %) pour les fractions H, S et P et d'un mélange HNO₃/acide chlorhydrique (HCl Optima, ultra-trace, pureté 99,9 %) pour les sédiments et MES. Les concentrations en ETM ont ensuite été mesurées par ICP-MS (Inductively coupled plasma mass spectrometry, iCAP 6000 Series, Thermo Scientific®). Afin de s'assurer de la fiabilité

des analyses, des matériaux de référence certifiés ont été utilisés pour les différentes matrices : TORT 2 (hépatopancréas de Homard), un sol type Loamy-clay, de l'eau certifiée, des feuilles de tabac oriental. Les taux de recouvrement déterminés pour chaque matériel dosé (de 80 à 121%, voir Annexe Métrologie) ont permis de retenir dix ETM : le Chrome (Cr), le manganèse (Mn), le Cobalt Co, le nickel (Ni), le Cuivre (Cu), le Zinc (Zn), l'arsenic (As) le molybdène (Mo), le Cadmium (Cd) et le Plomb (Pb).

8.2.5 Statistiques

a- Valeurs simulées (ROS-model)

Après avoir sélectionné les ETM d'intérêt par le biais d'une analyse métrologique, les proportions de valeurs inférieures aux LQ (limites de quantifications) ont été passées en revue. Ainsi, concernant les sédiments et MES, aucune valeur inférieure à ces LQ n'a été détectée. A l'opposé, au sein des fractions de larves, l'As, le Cd, le Co et le Pb présentaient des proportions de valeurs inférieures aux LQ respectives de 45%, 22%, 20% et 17%. Afin de pallier aux problèmes statistiques susceptibles d'être engendrés par la présence de valeurs inférieures aux LQ, les quatre éléments précédemment cités ont fait l'objet d'un traitement statistique préalable particulier. Ainsi, le modèle Regression on Order Statistics (ROS, package NADA) a été utilisé. Il permet de simuler ces valeurs non quantifiables à partir des valeurs observées et des LQ (Helsel, 2006 ; Helsel and Lee, 2006). Cette méthode est considérée comme étant la plus fiable, notamment afin d'estimer des concentrations moyennes. Malgré tout, afin d'éviter tout biais, il est préférable d'utiliser cette méthode pour des échantillons où la proportion de valeurs inférieures à la LQ ne dépasse pas les 50% (Annan et al., 2009).

b- Statistiques comparatives

Les concentrations en ETM au sein des différents compartiments (eau, sédiment et MES) ont été comparées par le biais d'analyses de variance (ANOVA) ou de tests non paramétriques kruskal.test lorsque les prérequis (normalité, homoscédasticité) n'étaient pas respectés. Ainsi, dans le cas où des comparaisons multiples ont été effectuées, les tests de Tukey (tukeyHSD : Honnest Significant Difference) ou kruskalmc (multiple comparison, package pgirmess) ont été réalisés afin de déterminer les différences statistiques par paire (p<0.05).

La croissance des larves et les cinétiques d'accumulation ont été traitées par modèles linéaires (lm, package stats). Lorsque la distribution des résidus ne suivait pas la loi normale ou que les variances n'étaient pas homogènes, les fonctions de variance (puissances et exponentielles) ont été appliquées et le meilleur modèle a été sélectionné selon le critère d'information d'Akaike (AIC, package pgirmess). La significativité des régressions et leur coefficient de détermination (r²) ont été déterminés en utilisant un seuil de significativité : p<0.05. Les pentes ont été comparées par chevauchement des intervalles de confiance à 95% et l'influence du type de cage par comparaison de modèles via le critère d'information d'Akaike.

L'ensemble des analyses statistiques a été réalisé à l'aide du logiciel R x64 version 3.0.3 et de l'éditeur de commande Tinn-R 2.4.1.7.

8.3 Résultats

1- Mise en évidence des sources de contamination

L'analyse des concentrations en ETM au sein des différentes sources de contamination potentielles (Tableau 8.1) indiquent que pour l'ensemble des ETM étudiés, l'eau ainsi que les sédiments issus du bassin de lagunage constituent, dans le cadre de cette étude, des sources majeures de contamination. En effet, après comparaison des valeurs de concentrations observées entre les sédiments « propre » et les sédiments (*in-situ*), il a été remarqué que ces derniers présentent des concentrations nettement supérieures à celles observées dans les sédiments CTRL. Ainsi, l'As, est présent dans des proportions quatre fois plus élevées au sein des sédiments (*in-situ*) tandis que le Cd, le Ni, le Cu, le Cr, le Zn et le Pb présentent des concentrations neuf à dix fois plus élevée au sein de ce même compartiment. Les sédiments CTRL ne présentent donc pas de teneurs significatives en ETM en comparaison des autres sources d'apport étudiées.

De plus, les MES constituent elles aussi une source significative d'apport en ETM notamment en Cd, Pb et Zn avec des concentrations similaires voire bien plus élevées que dans les sédiments. En effet, les teneurs en Pb relevées dans les MES sont jusqu'à quatre fois supérieures à celles observées dans les sédiments (*in-situ*).

Source de contamination	EAU		Sédiments	(In-situ)	Sédiments CTRL	MES			
ETM	[ETM] μg.L ⁻¹		[ETM] μg.g ⁻¹						
As	39.57	±11.71	70.96	±12.14	11.04	4.42			
Cd	0.24	±0.01	0.91	±0.14	0.10	0.59			
Со	32.66	±3.78	11.01	±2.84	1.04	0.32			
Pb	0.82	±0.42	42.47	±14.65	4.74	160.89			
Mn	4701.00	±2110.60	3422.36	±338.16	276.48	18.19			
Cr	18.58	±3.96	77.28	±13.9	9.29	6.88			
Ni	65.84	±4.92	24.17	±6.00	2.50	3.50			
Cu	100.35	±19.22	62.62	±13.89	7.48	5.60			
Мо	17.30	±3.77	2.97	±1.16	0.25	0.11			
Zn	113.88	±18.68	476.54	±52.16	55.40	661.79			

Tableau 8.1 : récapitulatif des concentrations en ETM présentes au sein des différentes sources de contamination potentielles.

2- Taux de récupération, mortalité et croissance des larves

Les taux de récupération moyens des larves après exposition atteignent les 98 ± 4 % dans les cages CTRL et 70 ± 16 % dans les cages SWISS. Concernant la survie des larves, le taux atteint 100% pour les cages CRTL et 93 ± 8 % pour les systèmes SWISS. L'analyse de la croissance des individus au cours de l'exposition (Tigure7.4) indique qu'il n'y a pas de différence significative de prise de masse ni de taille entre les deux types de cages. En effet, la prise de masse moyenne et l'évolution de la taille des individus sont respectivement de l'ordre de 0,06 mg.j⁻¹ et de 0,02 à 0,07 mm.j⁻¹. Malgré tout, il peut être remarqué qu'il existe une relation linéaire constante entre la masse et la taille chez les individus CTRL, tendance qui n'est pas observable chez les individus SWISS.


Figure 8.3 : croissance des larves de *C. riparius* au cours de l'exposition ; l'évolution de la taille des individus CTRL (Vert pointillés) et SWISS (vert trait plein) est exprimée en mm ; l'évolution de la masse des individus CTRL (jaune pointillés) et SWISS (vert).



Figure 8.4 : cinétiques d'accumulation des différents ETM considérés au sein des différentes fractions étudiées : H (bleu), P (vert), S (violet) et en fonction du traitement appliqué aux larves : CTRL (pointillés), SWISS (traits continus).

3- Cinétiques de bioaccumulation des ETM

Après observation de la Figure 8.5, il peut être remarqué que pour la majorité des ETM considérés, les cinétiques d'accumulation présentent deux phases cinétiques distinctes reflétant des comportements manifestement différents entre la première phase d'exposition (de 0 à 2j) et la seconde (de 2 à 5j). C'est pourquoi, dans le but d'étudier ces comportements de manière indépendante, les cinétiques ont été divisées en 2 parties. Ceci a permis dans un premier temps de comparer statistiquement (modèles linéaires) ces deux phases entre elles, puis d'étudier les comportements différentiels de bioaccumulation des ETM en fonction du traitement.

Ainsi, d'après les résultats de l'analyse statistique présentés dans le Tableau 8.2, les cinétiques d'accumulation CTRL sont caractérisées, pour tous les ETM excepté le Zn et le Cd, par deux phases statistiquement distinctes. La première étant croissante pour l'As, le Pb et le Mn et décroissante pour le Co, Cr, Ni, Mo, Cu. La seconde phase cinétique observée chez les individus CTRL est caractérisée par une pente décroissante pour l'As, le Co, le Pb, le Mn et le Cr. Au contraire, le Cu, le Mo, le Cd et le Ni présentent des phases cinétiques secondaires légèrement croissantes. Ainsi, l'analyse des cinétiques d'accumulation chez les individus CTRL indique clairement qu'il existe une tendance à l'accumulation de l'As, le Pb et le Mn lors de la première phase cinétique qui est suivie d'une phase d'excrétion. Au contraire, le Co, Cr, Ni, Mo et Cu ont plutôt tendance à être évacués dès la première phase cinétique. Le Zn, ne semble ni s'accumuler ni être évacué (r²=0,037-0,007) tandis que les concentrations en Cd au sein de la fraction totale semble légèrement décroître. Lors de la seconde phase cinétique, l'As, le Pb et le Mn présentent ensuite des cinétiques décroissantes marquant l'évacuation de ces derniers de la fraction H. La cinétique du Cr continue alors à décroitre dans une moindre mesure lors de la seconde phase. Au contraire suite à la première phase d'évacuation décrite pour le Cu, le Mo, le Cd et le Ni, ces ETM présentent une phase cinétique secondaire stable à légèrement croissante.

Les individus SWISS présentent globalement des cinétiques statistiquement linéaires pour l'ensemble des ETM considérés excepté le Mn. Ainsi, ce dernier présente une cinétique biphasique caractérisée par une pente croissante entre t0 et t2 suivie d'une pente décroissante entre t2 et t5. Concernant les autres ETM, l'As, le Pb et le Cd, leur pente est significativement croissante. Au contraire, le Co, le Mo, le Ni, le Cu et le Cr présentent des cinétiques décroissantes tout au long de l'exposition. Le Zn une fois encore présente une cinétique statistiquement linéaire

(r²=0,027-0,286). Chez les individus SWISS, le Mn présente donc une tendance à l'accumulation lors de la première phase de sa cinétique d'accumulation suivie d'une phase d'évacuation. L'As, le Pb et le Cd, eux, sont plus ou moins accumulés, selon l'ETM considéré, tout au long de l'exposition. Au contraire, le Co, le Mo, le Ni, le Cu et le Cr semblent être évacués du début de l'exposition à la fin de cette dernière.

De ce fait, des différences significatives inter-traitements ont été décelées tout au long de l'exposition (deux phases cinétiques) pour le Co, le Pb, le Mn et le Cu. Les autres ETM étant marqués par une seule phase significativement différente entre les traitements. En effet, la cinétique d'accumulation de l'As se démarque entre les traitements par la première phase cinétique qu'elle décrit. *A contrario*, pour le Cd, Cr, Ni et le Mo, c'est la seconde phase de la cinétique qui diffère statistiquement entre les traitements. Le Zn qui n'est ni accumulé ni évacué chez les individus des deux traitements n'est pas caractérisé par des cinétiques significativement différentes.

Traitement	CTRL												
temps	t 0-2					t 2-5							
ETM	[Moyenne]	IC0.95		sd	r²	[Moyenne]	IC0.95		sd	r²			
	µg/g/j	min	max			µg/g/j	min	max					
As	0.695	0.326	1.062	0.016	0.740	-0.054	-0.543	-0.543 0.436		0.006			
Cd	0.012	-0.051	0.074	0.025	0.030	-0.011	-0.023	-0.023 0.001		0.280			
Со	-0.245	-0.371	-0.118	0.054	0.749	-0.021	-0.104	0.062	0.037*	0.031			
Рb	0.331	-0.165	0.827	0.203	0.308	-0.092	-0.276 0.091		0.082*	0.112			
Mn	11.545	2.796	20.294	3.700	0.582	-3.490	-8.083	1.103	2.061*	0.223			
Cr	-36.294	-51.944	-20.644	6.618	0.811	0.319	-8.991	9.630	4.179*	0.0005			
Ni	-24.005	-34.126	-13.884	0.865	0.818	-0.606	-1.730	0.519	0.497*	0.142			
Cu	-7.792	-11.236	-4.348	1.456	0.804	1.054	-0.245 2.354		0.583*	0.246			
Мо	-5.123	-7.274	-2.971	0.910	0.820	0.149	-1.073 1.372		0.549*	0.007			
Zn	-3.856	-21.345	13.632	7.396	0.037	-0.809	-7.461	5.844	2.986	0.007			
Traitement	SWIS												
temps	t 0-2 t 2-5												
ETM	[Moyenne]	IC0.95		sd r ²		[Moyenne]	Moyenne] IC0.95		sd	r²			
A =	µg/g/j	min	max			µg/g/j	min	max					
As	0.258**	-0.267	0.782	0.214	0.194	-0.111	-0.369	0.147	0.114	0.095			
Cd	0.033	-0.027	0.092	0.023	0.283	0.031**	-0.024	0.085	0.024	0.151			
Со	(-0.183**	-0.410	0.044	0.093	0.392	(-0.109**	-0.195	-0.024	0.038	0.480			
Pb	0.168**	-0.072	0.407	0.093	0.393	(-0.031**	-0.148	0.086	0.052	0.039			
Mn	4.703**	-0.088	9.493	1.958	0.490	(-3.759**	-6.204	-1.313	1.081*	0.573			
Cr	-27.437	-50.479	-4.395	9.417	0.586	(-14.442**	-25.019	-3.866	4.675	0.514			
Ni	-18.019	-32.956	-3.081	6.105	0.592	(-9.217**	-15.375	-3.058	2.722	0.560			
Cu	(-1.727**	-5.822	2.368	1.674	0.151	(-2.69**	-6.357	0.977	1.621	0.234			
Мо	-3.658	-6.880	-0.437	1.317	0.563	(-1.964**	-3.372	-0.556	0.623	0.525			
Zn	3.186	-15.921	22.293	7.809	0.027	-6.980	-15.289	1.330	3.673	0.286			
**	différence significative entre traitements (sur la base de la comparaison des modèles par l'AICc et/ou de la significativité du paramètre)												
*	différence sigr	différence significative entre deux phases cinétique sur la base du chevauchement des IC et des Sd											

Tableau 8.2 : récapitulatif des relations statistiques (pour la fraction H) entre les différentes phases cinétiques décrites pour chaque ETM et en fonction des différents traitements.

4- Fractionnement des ETM au sein des organismes

Le Tableau 8.3 permet d'évaluer la fiabilité de la mesure des concentrations effectuées au sein de la fraction H. Ainsi, il est remarqué ici, que pour l'essentiel des ETM considérés les

concentrations évaluées au sein de la fraction H sont en accord avec celles mesurées au sein des fractions P et S. Malgré tout, concernant le Cr, les taux de recouvrement entre $H_{calculé}$ et $H_{mesuré}$ sont de l'ordre de 155% et 247% pour les traitements SWISS et CTRL. Ainsi, les charges totales en Cr (SWISS et CTRL) sont soit sous-évaluées dans la fraction H, soit sur-évaluées dans la fraction P.

Tableau 8.3 : récapitulatif des taux de recouvrement entre $H_{calculé}$ et $H_{mesuré}$ moyen ($H_{calculé}$ = moyenne ([S]+ [P])).

ETM	А	s	с	d	С	o	Р	b	N	Л	c	r	Ν	li	с	u	N	Л	z	n
Traitement	SWISS	CTRL	swiss	CTRL	SWISS	CTRL	swiss	CTRL	swiss	CTRL	swiss	CTRL	SWISS	CTRL	swiss	CTRL	swiss	CTRL	swiss	CTRL
[ETM]Hthéorique (μg.g-1)	1.05 ± 0.5	1.16 ± 0.68	0.1 ± 0.05	0.08 ± 0.04	0.59 ±0.31	0.62 ±0.21	0.47 ± 0.13	0.97 ± 0.40	18.80 ± 5.14	26.80 ±10.0	57.84 ± 39.92	70.84 ± 33.16	37.27 ± 26.83	44.69 ± 22.47	19.88 ± 6.32	14.31 ± 5.63	7.93 ± 5.55	9.56 ± 4.59	71.25 ± 26.14	76.07 ± 21.69
[ETM]Hmoy (μg.g-1)	1.02 ± 0.5	1.29 ± 0.79	0.095 ± 0.08	0.07 ± 0.04	0.44 ± 0.27	0.54 ± 0.21	0.45 ± 0.18	0.93 ± 0.42	18.30 ± 5.66	26.91 ± 11.7	37.27 ± 37.27	28.72 ± 28.7	33.14 ± 23.80	39.75 ± 18.6	20.55 ± 6.11	15.59 ± 6.12	7.17 ± 5.06	8.45 ± 3.92	54.99 ± 15.7	59.9 ± 15.7
% Recouvrement	103	90	109	119	133	115	105	103	103	100	155	247	112	112	97	92	111	113	130	127

5- Eléments non-essentiels (As, Cr, Ni, Pb, Cd, Co).

Selon la (Figure 8.6), le fractionnement de l'As n'évolue pas significativement en fonction du temps pour les individus soumis au traitement CTRL (variation entre 90 et 92% au sein de la fraction P). Au contraire, concernant le traitement SWISS, une augmentation de l'ordre de 20% de la part d'arsenic est observée au sein de la fraction S entre t4 et t5.

Au sujet du Cd, chez les individus issus du traitement SWISS, une augmentation de la proportion en cet élément est observée au sein de la fraction S entre t0 et t4 suivie par une faible redistribution du Cd au profit de la fraction P. Cette même tendance est elle aussi constatée dans une moindre mesure pour le traitement CTRL. En observant conjointement les Figures 8.5 et 8.6, il peut être constaté que ceci se traduit, sur l'ensemble du profil cinétique par une teneur en Cd au sein de la fraction S plus importante pour le traitement SWISS que pour le traitement CTRL. Ainsi, sur l'ensemble du profil, une tendance à l'accumulation préférentielle du Cd au sein de la fraction S est recensée pour le traitement SWISS comparé au traitement CTRL. Dans le même ordre d'idée, après observation du profil de répartition du Co dans son ensemble, il peut être remarqué que son fractionnement est favorisé au sein de la fraction S pour le traitement SWISS, excepté en fin d'exposition où la tendance s'inverse en faveur du traitement CTRL. Malgré tout, en faisant le lien entre les Figures 8.5 et Figure 8.6, il peut être remarqué qu'en fin d'exposition, la teneur en Co intra-S est bien moins importante chez les individus SWISS que chez les individus CTRL.

Concernant le Cr, aucune différence de fractionnement n'est observée entre les deux traitements Figure 8.6. La même observation peut être faite en raisonnant en termes de concentration Figure 8.5.

L'analyse du fractionnement du Ni indique que cet élément est préférentiellement mobilisé au sein de la fraction S pour le traitement SWISS. En effet, une augmentation de la proportion en Ni au sein de cette fraction est observée tandis que pour le traitement CTRL, cette même proportion n'évolue que peu au cours du temps. Malgré tout cette observation est à mettre en corrélation avec la charge totale en Ni représentée dans la Figure 8.5, qui indique que la charge totale diminue chez les traitements SWISS contrairement à ce qui est observé chez les individus CTRL où cette charge totale est stable durant la seconde phase cinétique. Ainsi, il semblerait que les individus CTRL possèdent, lors de la seconde phase cinétique, une concentration intra-S en Ni identique à celle des individus SWISS (ce qui est statistiquement confirmé, voir ANNEXES Synthèse statistiques cinétiques).

Pour le Pb, une augmentation de la concentration au sein de la fraction S est observée pour le traitement SWISS (Figure 8.5). Dans le même temps, la proportion de Pb intra-S pour ce même traitement est en augmentation. *A contrario*, au sein des individus issus du traitement CTRL, une diminution de la proportion en Pb est observée au cours de l'exposition (Figure 8.6) alors que les concentrations dans cette fraction n'évoluent pas. Au vu de l'allure de la Figure 8.6, le Pb semble donc rapidement assimilé par les individus SWISS tandis que chez les individus CTRL sa remobilisation au sein de la fraction P semble favorisée.

6- Eléments essentiels (Zn, Mn, Mo, Cu)

Une phase de diminution des proportions en Cu au sein de la fraction S est observée durant les premiers jours d'exposition. Cette cinétique décroissante est ensuite suivie d'un accroissement de

la proportion intra-S en Cu, et ce, pour les deux traitements. La charge totale en Cu étant supérieure chez les individus SWISS durant la totalité de l'exposition, la concentration en cet élément au sein de la fraction S est supérieure chez les individus SWISS.

Concernant le Mn, l'allure des graphiques CTRL et SWISS est similaire. Une légère augmentation des proportions au sein de la fraction S est alors constatée dans les premiers jours d'exposition. Les proportions intra-S sont malgré tout légèrement supérieur au sein des individus SWISS. Mais compte tenu des concentrations observées dans la Figure 8.5, les teneurs en Mn au sein de la fraction S sont semblables dans les deux traitements.

La concentration en Mo au sein de la fraction S, augmente progressivement au cours des 5 jours d'exposition (CTRL). La même tendance est observée chez les individus SWISS durant l'essentiel du temps d'exposition. Malgré tout, cette tendance s'inverse en fin d'expérience. Ainsi, en fin d'exposition, les proportions en Mo au sein de la fraction S sont sensiblement différentes entre les deux traitements. Malgré tout, les concentrations dans cette fraction y sont similaires.

Pour finir, l'évolution des proportions en Zn au sein de la fraction S est similaire entre les deux traitements, et ce, autant en terme de concentration que de proportion, ce qui est confirmé par les statistiques (ANNEXES : synthèse statistiques cinétiques).

Chapitre 8 Étude de la bioaccumulation des éléments traces métalliques dans le Chironome *Chironomus riparius*



Figure 8.5 : fractionnement des différents ETM en fonction du traitement, des fractions P (vert foncé) et S (vert clair) et du temps (Calculé sur la base du H théorique soit moyenne ([S] + [P])).

8.4 Discussion

8.4.1 Contaminations environnementales

Les concentrations en ETM relevées au sein des différentes sources de contaminants potentielles indiquent, que pour les ETM considérés, il existe de nombreuses valeurs observées qui sont susceptibles d'entraîner des perturbations chez les organismes aquatiques.

8.4.1.1 Eau

Au sein des eaux de surface du bassin de lagunage, plusieurs ETM présentent des concentrations significativement supérieures aux valeurs de référence recensées dans la bibliographie (Tableau 8.3). En effet, au vu des valeurs recensées (NQE et PNEC), l'As dont la solubilité des composés est relativement variable (dérivés pentavalents plus solubles que les trivalents), le Co, le Mn, le Cr, le Ni, le Cu et le Zn représentent des sources de perturbation chronique des milieux aquatiques. Ainsi, le Ni, présent essentiellement au sein des milieux aquatiques sous forme divalente, forme de nombreux complexes stables. Il sera donc en majorité retrouvé sous forme d'ion hexahydraté soluble (dichlorure de nickel, sulfate de nickel, dinitrate de nickel...) au sein de la masse d'eau où il est susceptible de causer des perturbations du milieu aquatique. Malgré tout, la NOEC30j évaluée chez C. riparius par Powlesland and George (1986) indique qu'à une concentration inférieure à 780 µg.l⁻¹ aucun effet n'a été repéré. Concernant le Zn, présent en forte quantité au sein du bassin de lagunage, les concentrations recensées sont supérieur aux normes établis en France, mais ne dépassent pas les valeurs définies pour la protection de la vie aquatique au Canada (CVAC : correspond à la concentration maximale sans effet sur la faune aquatique et les progénitures des espèces présentes). Les concentrations en Cobalt observées au sein de l'eau sont élevées. En effet, Smith and Carson (1981) ont reporté que dans la plupart des eaux douces de surfaces (E.U), les concentrations en Co sont inférieures à 1 µg.l⁻¹. Ils ont ainsi remarqué que les zones habitées et minières étaient celles où les concentrations en Co étaient les plus importantes (soit respectivement : de 1 à 10 μ g.l⁻¹ et de 11 à 50 μ g.l⁻¹). Enfin, concernant Cd, le Pb et le Mo, les valeurs observées dans l'eau du bassin ne dépassent pas les valeurs recensées dans la bibliographie. Malgré tout, aucun consensus n'a encore été trouvé concernant la valeur de PNEC pour le cadmium. Selon la dureté de l'eau les valeurs seuils proposés pour cet élément sont variables : $(0,75 \ \mu g.l^{-1} \text{ pour une duret} \le mg.l^{-1} \text{ de CaCo}_3 \text{ et } 0, 21 \ \mu g.l^{-1})$ pour une duret $\le 50 \ mg.l^{-1}$. Guigue et al. (2013) ayant décelé des teneurs en CaCo₃ relativement élevées au sein des sédiments du bassin de lagunage, la PNEC retenue dans le cadre de notre étude sera de (0,75 \ \mu g.l^{-1}).

Ainsi, dans cette étude, et d'après les valeurs seuil et de références issus de la bibliographie, les concentrations en Cd, Mo, et Pb observées semblent respecter ces valeurs définies pour l'eau et ne sont donc pas censées entraîner r de perturbation du milieu.

Tableau 8.4 : récapitulatif des concentrations seuils et de références pour la protection des milieux aquatiques dans le cadre d'un transfert par l'eau (PNEC : Predicted No Effect Concentration, NOEC : No Effect Concentration, NQE : Normes de Qualité Environnementale, et Réf. : correspondant aux diverses valeurs recensés dans la bibliographie internationale, CVAC : Critère de Vie Aquatique Chronique.

ETM	EAU (μg . Ι ⁻¹)							
	PNEC	NOEC macro.inv.	NOEC poisson	Réf.	NQE	Valeurs mesurées		
As	4,4 ¹	3 21J : 260	5 6m : 76		4,2 ³	39.57 *	±11.71	
Cd	0,21- 0,75 ³	0.50	27J : 1,3 ³			0.24	±0.01	
Со	0,5 ³	21J : 0,5 ⁸	PNEC = 0,1 ⁸	1-10 ⁶		32.66*	±3.78	
Pb	5 ³				7,2 ³	0.82	±0.42	
Mn	4.10			16 ²		4701.00*	±2110.60	
Cr	3,4 ³	0,047-0,129	0,05 ⁹		4,1 ³	18.578 *	±3.96	
Ni	0,8 ³	30J : 780 ⁵	75J : 35 ⁶		20 ³	65.84 *	±4.92	
Cu	1,6 ³	34 ⁶			1,4 ³	100.35*	±19.22	
Мо		C150, 48h :206,8(x10 ³) ³		CVAC : 73 ⁷		17.30	±3.77	
Zn				CVAC : 240 ⁴	7,8 ³	113.88*	±18.68	

8.4.1.2 Sédiments

Au vu des valeurs seuils et de références recensées dans la bibliographie pour la contamination des sédiments, 5 ETM semblent être susceptibles de menacer l'intégrité des organismes aquatique (Tableau 8.4) : l'As, le Mn, le Cr, le Ni et le Zn. En effet, les valeurs de références et de PEC relevées pour l'As sont respectivement entre 5-11 fois et 2 fois inférieures aux valeurs mesurées

dans le bassin de lagunage. Les sédiments prélevés au sein des cages SWISS, apparaissent donc comme fortement contaminés. Dans le même ordre d'idée, le Mn, le Cr et le Zn sont respectivement observés ici à des concentrations 7 ; 1,8 et 4 fois supérieures aux TEC définis pour ces ETM.

Le Zn, dont la compartimentation entre sédiment et eau est influencée par des phénomènes de coprécipitation avec le CaCo₃ est donc en majeure partie présent au sein des sédiments (**Guigue et al., 2013**). Mais ceci ne l'empêche pas d'être recensé à des concentrations importantes au sein des eaux de surface du bassin. Ainsi, le Zn est susceptible d'engendrer, au même titre que l'As, le Mn et le Cr, des perturbations de la faune aquatique par le biais de l'eau et des sédiments. Pour le Pb, les valeurs observées dans les sédiments sont supérieur au TEC et plus de 6 fois supérieures aux prédictions de concentration sans effet. Cet élément semble donc lui aussi constituer un risque pour la faune aquatique.

Concernant le Ni et le Cu la tendance est moins nette. Les valeurs observées sur le site d'étude sont en effet bien supérieures à la PNEC et à la TEC mais inférieures au PEC définie par **MacDonald et al.** (2000). Ainsi, les concentrations en Ni et Cu sont donc particulièrement susceptibles d'engendrer des perturbations du milieu et des organismes par le biais de l'exposition à l'eau et dans une moindre mesure par le biais des sédiments.

Pour le Co, aucune valeur seuil n'a été définie à ce jour. Malgré tout, au vu des observations de **Smith and Carson (1981)** (Tableau 8.4), les concentrations en Co relevées dans les sédiments du bassin de collecte des lixiviats sont inférieures aux concentrations recensées dans les cours d'eau non contaminés. Ainsi, d'après ces mêmes auteurs les sédiments contaminés par des gisements miniers présentent des concentrations de l'ordre de 150 μ g.g⁻¹ MS (Blackbird mine en Idaho, USA). De plus, Co comportant de nombreuses affinités avec le Mn au sein des sédiments, il est rendu peu disponible par les liaisons qu'il forme avec ce dernier. **Smith et Carson (1981)** ont ainsi observé des teneurs en Co au sein des nodules de Mn des sédiments prélevés au sein d'un lac, de l'ordre de 160 à 650 μ g.g⁻¹ MS (lac Ontario, Oneida, Michigan.

Les concentrations en Cd observées respectent les valeurs seuil définies pour l'eau et les sédiments et ne sont donc pas censées entraîner de perturbation du milieu. Concernant le Mo, aucunes valeurs seuil ou de référence n'a été recensée au sein de la bibliographie étudiée. Malgré

tout, les CL50, 48h observée chez *Daphnia magna* par **Chappell** (**1975**) étaient de l'ordre de 206,8 mg.l⁻¹. Compte tenu de ces valeurs importantes, Les concentrations en Mo au sein des sédiments et de l'eau du bassin ne semblent pas, dans le cadre de notre étude, avoir d'effet délétère potentiel pour la vie aquatique.

Tableau 8.5 : récapitulatif des concentrations seuils et de références pour la protection des milieux aquatiques dans le cadre d'un transfert de contaminant par le biais des sédiments (PEC : Predicted Effect Concentration, TEC : Treshold Effect Concentration et milieux de référence correspondant aux concentrations moyennes observées dans les milieux non contaminés.

	Sédiments (µg .g ⁻¹ MS)									
	Milieu de référence	PEC	TEC	Valeurs mesurées						
As	2,4-13,1 ¹	33 ²		70.96* ±12.14						
Cd		4,98	0,99	0.91 ±0.14						
Со	20 ⁵			11.01 ±2.84						
Pb	6,8 ⁴	128	35,8	42.47 ±14.65						
Mn			460 ³	3422.36* ±338.16						
Cr		111	43,4	77.28* ±13.9						
Ni		48,6	22,7	24.17* ±6.00						
Cu	PNECsed : 0,8 ⁴	149	31,6	62.62 ±13.89						
Мо			-	2.97 ±1.16						
Zn		459	121 ²	476.54* ±52.16						

*risques chroniques avérés pour la faune aquatique

8.4.1.3 MES

Aucune valeur seuils ni valeurs de référence officielles concernant les MES n'ont été recensées dans la bibliographie. Les concentrations en ETM recensées au sein des MES du bassin de lagunage sont relativement faibles en comparaison des valeurs de références définies par **Thomas et Meybeck (1992)** (Tableau 8.6).

En effet, tous les ETM considérés, excepté le Pb et le Zn, sont inférieurs à ces valeurs de référence.

Chapitre 8 Étude de la bioaccumulation des éléments traces métalliques dans le Chironome Chironomus riparius

Les teneurs en Pb au sein des MES sont 4 fois supérieures à la référence. Ainsi, les sources de contamination au Pb présentes au sein du milieu son essentiellement représentées par les sédiments et surtout les MES retrouvées en quantité importante. Le Zn, une fois encore est présent dans des ordres de grandeur bien supérieurs aux valeurs de références. Ce dernier représente donc sans conteste un risque de contamination des organismes aquatiques.

Ainsi, les concentrations en ETM étant variables d'une source de contamination à l'autre, l'exposition des larves de chironomes est susceptible d'être modulée en fonction du type de traitement appliqué.

	MES (με	g.g ⁻¹ MS)
	Ref.	Valeurs mesurées
As	8.00	4.42
Cd	0,8	0.59
Со		0.32
Pb	40	160.89*
Mn	300-1000	18.19
Cr	120.00	6.88
Ni	80.00	3.50
Cu	50.00	5.60
Мо		0.11
Zn	110.00	661.79*

Tableau 8.6 : récapitulatif des concentrations de référence au sein des MES définies par Thomas et Meybeck (1992) à partir d'études effectuées sur des rivières réputées comme non contaminées.

*risques chroniques avérés pour la faune aquatique

8.4.2 Biodisponibilité / bioaccumulation

D'après l'étude des cinétiques d'accumulation réalisée précédemment, il a pu être constaté que certains ETM présentaient des flux d'assimilation significatifs reflétant leur biodisponibilité (As, Cd, Pb, Mn notamment). Malgré tout, selon le type de cage considéré, des différences de bioaccumulation ont pu être décelées. En effet, l'As et le Pb sont accumulés dans une plus grande mesure chez les individus CTRL que chez les individus SWISS. Au contraire, le Cd est accumulé de manière importante durant toute l'exposition chez les individus exposés au sédiment du bassin

de lagunage et dans une moindre mesure chez les individus CTRL. Ainsi le Cd serait accumulé par le biais de l'ingestion du sédiment en majeure partie mais aussi par l'eau. Ceci est confirmé par **Craig et al. (1998)** qui en exposant des larves de *Chironomus staegeri* à de l'eau contenant du ¹⁰⁹Cd et à de l'eau et du sédiment contenant du ¹⁰⁹Cd ont remarqué que cet isotope était dans les deux cas retrouvé à 94 % au niveau du tractus digestif.

Il semblerait donc que la source de contamination joue un rôle majeur dans la biodisponibilité des ETM. En effet, Craig et al. (1998) ont réitéré l'expérience précédemment citée sur des larves de Chironomus Spp. prélevées au sein de lacs. Il en est ressorti que 75 % du ¹⁰⁹Cd ont été repérés au sein de l'intestin et plus particulièrement du mésentère postérieur, lieu où il entre en compétition avec le Ca²⁺ afin de parvenir à traverser les membranes cellulaires, les branchies et papilles annales participant essentiellement à l'accumulation d'ions monovalents (Taylor, 1986 in Craig et al., 1998). L'intestin semble donc être l'organe principal d'assimilation du Cd, mais cet élément ne semble pas plus assimilé par le biais de la nourriture ingérée que par l'eau. La cinétique décrite par les organismes SWISS concernant l'accumulation en cadmium au sein de la fraction totale étant linéaire, l'accumulation du Cd semble dépendante du temps d'exposition, ce qui est confirmé par Crommentuijn et al. (1994) qui décrivent une accumulation continuelle du Cd durant l'exposition (ce qui est probablement due à sa forme de stockage, voir section 3). Dans le même ordre d'idée, le Pb est présent en forte quantité sur les MES qui semblent donc constituer la source de contamination majeure en Pb du bassin. Le fait que les organismes CTRL accumulent le Pb dans une plus grande mesure que les SWISS indique que la bioaccumulation de cet élément passe par les MES, source majeure de nourriture des organismes CTRL. En effet, au sein des divers habitats qui caractérisent les milieux d'eau douce, le Pb possède une forte affinité pour les MES (Van Hattum et al., 1993). Ainsi, la bioaccumulation du Pb semble essentiellement réalisée par le bais de la nutrition. La seconde phase de la cinétique de cet élément (tous traitements confondus) indique que son excrétion s'équilibre voire surpasse son assimilation. Cette phase de stabilisation / saturation survenant pour les individus exposés (tous traitements confondus, semble rejoindre les observations de MacLean et al. (1996) et de Komjarova et Blust (2008) qui ont respectivement travaillé sur Hyalella azteca et Daphnia magna et ont remarqué une forte accumulation du Pb dans les premières 24h d'exposition suivie d'une phase de saturation. Ceci suggère l'existence d'un mécanisme de régulation de la concentration interne en Pb.

De même, l'As et le Mn, bioaccumulés chez les individus issus des deux types de traitement, semblent donc être assimilés par le biais des sédiments et de l'eau. Malgré tout, les individus CTRL présentant une phase d'accumulation en As et Mn plus importante que les SWISS, il semblerait que l'eau soit le vecteur majeur de ces éléments.

Ainsi, les interactions entre facteurs physico-chimiques et biologiques étant déterminants dans la biodisponibilité des ETM (**Blau et al., 1975; Luoma,1989; Campbell et al., 1988; Van Hattum et al., 1991 in Van Hattum et al., 1993**), la mesure des paramètres physico-chimiques au cours de l'exposition a été effectuée. Aucunes variations significatives de pH, de conductivité ou encore de température au sein de l'eau du bassin de lagunage n'ont été décelées. Ces valeurs étant respectivement de $7,38 \pm 0,02$; 1380 ± 32 et de $8,6 \pm 0,6$ tout au long de l'exposition. La mobilisation différentielle des ETM (accumulation / excrétion) en fonction du traitement et du temps ne peut donc être due à l'évolution de ces paramètres à l'échelle du bassin de lagunage. Malgré tout, des modifications du pH entre les eaux superficielles et interstitielles, sont susceptibles d'affecter la spéciation des ETM (Florence, 1976; O'Shea and Mancy, 1978 in

Van Hattum et al., 1993) et leur partitionnement entre la phase solide des sédiments et l'eau (Campbell and Tessier, 1989 in Van Hattum et al., 1993). Ceci serait susceptible d'expliquer les différences d'accumulation entre traitements, et ce surtout lorsque l'accumulation est favorisée au sein des cages CTRL alors que les sédiments qu'elles contiennent sont en moyenne 10 fois moins contaminés que les sédiments issus du bassin de lagunage. De surcroît, la composition des sédiments, qui varie fortement entre les sédiments contrôles (constitués de silice) et les sédiments prélevés au sein du bassin de lagunage (très organique) est elle aussi susceptible d'expliquer cette différence d'accumulation, notamment concernant la biodisponibilité du Mn et de l'As. En effet, la composition des sédiments est susceptible de réduire la biodisponibilité des ETM. Ainsi, la matière organique et résiduelle, qui participent à la fixation de la majeure partie des ETM, l'argile et les oxydes de Fer, sont susceptibles d'adsorber une grande partie des ETM dissous au sein des sédiments (Oakley et al., 1981; Luoma, 1989; Campbell et al., 1988 in Van Hattum et al., 1993). Ceci entraîne la réduction de leur biodisponibilité et les flux d'assimilation qui y sont associés de manière directe (par réduction de la biodisponibilité lors de l'ingestion, au sein du tractus digestif) et / ou indirecte (par partitionnement des ETM entre l'eau et les sédiments). Ce raisonnement confirme donc le fait que le vecteur majeur d'accumulation de l'As et du Mn soit l'eau.

D'autres éléments, tels que le Zn, le Co, le Cr, Cu, Mo, Ni ne semblent pas biodisponibles. En effet, le Zn, élément essentiel, n'est ni accumulé, ni excrété significativement au cours de l'expérience. Il ne semble donc pas participer ici à l'induction de réponse (excrétion, séquestration...) des organismes à une toxicité. Malgré tout, Timmermans et al. (1992) ont démontré que lors d'une exposition prolongée (5 semaines) de C. riparius à de l'eau contenant des concentrations en zinc de l'ordre de 0,1 mg.l⁻¹ (contre 0,11 mg.l⁻¹ ici), un retard de développement larvaire et donc d'émergence des imagos était observé. Les concentrations totales (H=P+S) en Zn observées dans notre étude sont en adéquation avec les observations d'auteurs tels que Rainbow and White (1989) qui ont recensé des concentrations optimales en zinc chez Palaemon elegans de l'ordre de 70 µg.g⁻¹ de masse sèche (MS). De même, l'observation de la cinétique du Zn durant l'exposition tend à confirmer les analyses de Kranzberg & Stokes (1988) et Rainbow (1988) dans le sens ou le Zn, du fait de son statut d'élément essentiel, est soumis à régulation. Ainsi, même dans le cas où les sédiments sont contaminés Van Hattum (1993) a observé une bioaccumulation remarquablement faible du zinc par Asellus Aquaticus. La faible bioaccumulation du Zn au sein de C. riparius est donc susceptible d'être due aux mécanismes de régulation / séquestration de la concentration interne en Zn qui semblent particulièrement efficaces chez bon nombre d'invertébrés aquatiques.

La phase excrétoire observée dans les deux premiers jours des cinétiques d'accumulation des ETM tels que le Cu, Cr, Ni, Mo et le Co, indique que durant cette période, l'excrétion est prépondérante sur l'assimilation. Ceci proviendrait donc du fait que ces ETM sont faiblement biodisponibles et / ou qu'il existerait des interactions entre ETM susceptibles de modifier leur assimilation. Ces éléments étant considérés comme des éléments essentiels pour les plantes, les fortes charges repérées en début d'exposition chez les individus exposés s'expliquent par le fait que ces ETM ont été bioaccumulés durant la phase préparatoire à l'exposition. En effet, compte tenu des concentrations en Mo, Cu et Ni présentes dans l'avoine, qui sont respectivement de 1,81 ; 2,95 et 0,41µg.g⁻¹ MS, il semble tout à fait cohérent que l'avoine, source de nourriture des larves lors de la phase préimplantatoires soit à l'origine de ces concentrations élevées suite à la période d'incubation. Ainsi, la concentration initiale en Cu au sein des organismes au début de l'exposition est de 25 µg.g⁻¹ MS ce qui est en accord avec les valeurs de concentrations en cuivre observées chez les individus témoins utilisés dans le cadre de la thèse de **Arambarou (2013)**. Au contraire, concernant le Cr et le Co, les concentrations présentes au sein de l'avoine ne sont pas

quantifiables par ICP-MS. La phase d'excrétion repérée en début d'exposition pour ces ETM est donc susceptible d'être due à des interactions entre ETM (synergie, antagonisme...) qui sont susceptibles de moduler leur assimilation.

Ainsi, La diminution de la concentration totale en Cu chez les individus des deux traitements est aussi susceptible d'être due au fait que le cuivre et le Pb semblent partager des voies d'accumulation communes (Sánchez-Marín et al., 2014). En effet, l'augmentation rapide du Pb lors de la première phase cinétique des individus CTRL est synchrone avec la diminution de la concentration en Cu chez les organismes issus du même traitement. De même, la plus faible augmentation de la concentration en Pb chez les individus SWISS est là aussi en accord avec l'hypothèse que l'influx de Pb inhiberait celui du Cu et entraînerait même son excrétion. Ainsi, Sánchez-Marín et al., (2014) ont indiqué que le Cu inhiberait l'accumulation du Pb et inversement et qu'ils emprunterait ainsi, à une certaine concentration, un système de transport commun. De même, de manière indirecte, le Pb étant susceptible de causer des dysfonctionnements de l'homéostasie sodique et calcique (Grosell et al., 2006 in Komjarova and Blust, 2009), sa présence est susceptible de favoriser l'accumulation d'autres ETM.

Ainsi, l'inhibition de l'accumulation du Mo, Cr, Ni et du Co est potentiellement due à des interactions de ce type. En effet, **Komjarova and Blust** (2008), ont démontré lors d'une expérimentation sur *Daphnia magna* exposée à des doses chroniques d'ETM en mélange, que l'assimilation combinée de Cd et de Cu inhibait l'accumulation du Zn et du Ni. Dans notre étude, aucun flux d'assimilation de Cu ni aucun flux visant à excréter le Zn n'est observé. Malgré tout, l'accumulation importante du Cd surtout chez les individus SWISS, est susceptible d'engendrer un phénomène compétitif entre ces ETM et ainsi d'inhiber les flux d'accumulation du Ni.

La mobilisation, la spéciation et les flux d'assimilation des ETM au sein des organismes aquatiques sont des mécanismes dépendant de facteurs physico-chimiques tels que le pH et la température (**Hopkin, 1989 in Van Hattum et al., 1993**). Il existe donc trois grands mécanismes de diminution de la biodisponibilité des ETM dépendant des conditions environnementales : I) la spéciation des ETM en fonction du pH essentiellement, II) leur partitionnement entre fraction solide (sédiments / MES) et liquide (eau), et III) la diminution de leur absorption dans le tractus digestif (surtout en ce qui concerne les ions divalents) (**Tessierand and Campbell, 1987 in Laskowski et al., 2010**).

Ainsi, les profils cinétiques des différents ETM sont fortement contrastés, ceci est dû à leur biodisponibilité différentielle et aux interactions qui sont susceptibles d'être mises en évidence entre ces éléments. Ceci peut aussi être mis en relation avec les mécanismes de régulation / détoxication et formes de stockage au sein des tissus des organismes aquatiques.

8.4.3 Fractionnement et potentiel toxique des ETM

L'As, au même titre que le Cr sont peu présents au sein de la fraction cytosolique où leurs effets toxiques sont susceptibles d'avoir un impact sur l'intégrité des organismes. Malgré tout, l'As semblé légèrement plus accumulé au sein de la fraction cytosolique lorsque les individus sont exposés à l'eau et aux sédiments simultanément. Il semblerait donc que les mécanismes de séquestration et d'excrétion de l'As soit moins efficients lorsque le flux d'assimilation provient de sources multiples (à la fois du milieu : eau ; et de la source d'alimentation : sédiments). En effet, en fin d'exposition, pour une concentration totale similaire en As chez les individus issus des deux traitements, il a été constaté une compartimentation de l'As au sein de la fraction cytosolique supérieure chez les individus SWISS.

Au même titre que pour les ETM précédents, les proportions en Ni au sein de la fraction S sont relativement faibles. En effet, Le Ni est un ETM très faiblement assimilé par la plupart des organismes vivants et reste en majeure partie associé à la matière particulaire (**Kabata-Pendias et Pendias, 1992**). Malgré tout, les individus SWISS semblent accumuler une plus grande proportion de Ni au sein de la fraction S que les individus CTRL, respectivement ~ 25% et ~ 12%, ce qui est bien inférieur à ce qui a été observé chez *Gammarus fossarum* (50%) et au sein des glandes digestive de *Chlamys varia* (60-65%). En effet, il semblerait que le fractionnement entre fraction cytosolique et fraction insoluble soit variable d'une espèce à l'autre (**Geffard et al., 2010**) selon que les mécanismes de détoxications se déroulent par l'intermédiaire des MRG (Metals Rich Granules) ou des métallothionéines, respectivement attribuées à la fraction P et à la fraction S.

La proportion de Pb au sein du cytosol des organismes CTRL est en moyenne de 8 % une concentration en Pb au sein de la fraction cytosolique de 0,8 μ g. g⁻¹ MS contre 0,13 μ g. g⁻¹ (27 %) pour les individus SWISS. Ainsi, il existerait un mécanisme de régulation / séquestration des concentrations intra-S en Pb qui participerait à maintenir cette concentration autour de

(10 µg.g⁻¹MS). **Kranzberg & Stokes** (**1988**) ont reporté que plus de 75% de la charge totale en Pb des larves de *Chironomidae* sont susceptible d'être adsorbés sur l'exosquelette. Au contraire, **Timmermans et al.** (**1992**) ont démontré que l'essentiel de cette charge était inféodée à l'adsorption des ETM au sein du tube digestif. Dans les deux cas, les auteurs suggèrent qu'une importante portion de la charge totale en Pb est adsorbée à la fraction P. En effet, malgré l'important facteur de bioaccumulation qui peut être observé pour le Pb, une grande part de ce dernier est directement fixée aux MRG et aux débris cellulaires (fraction P) qui permettent une ségrégation significative du Pb en dehors de la fraction soluble (**Geffard et al., 2010**).

Le Cd, qui est significativement bioaccumulé par de nombreuses espèces animales et biomagnifié au sein des réseaux trophiques (Croteau et al., 2005 in Perceval et al., 2006), est, au sein des organismes SWISS accumulé tout au long de l'exposition. Dès le second jour d'exposition il est plus représenté au sein de la fraction cytosolique (55%) que de l'insoluble. Berthet et al., 2003 ont obtenu des résultats similaires chez Nereis diversicolor avec un pourcentage de répartition du Cd au sein de la fraction cytosolique de l'ordre de 50 % lorsque ces invertébrés étaient exposés sur des sites contaminés. Malgré des charges totales similaires, des proportions de Cd intracytosolique inverses sont observées au niveau des individus CTRL. Cela confirme que la bioaccumulation du Cd s'est essentiellement déroulée par le biais de la nutrition (sédiments et MES qui possèdent des charges en Cd comparables), où des interactions avec d'autres ETM (Pb et Ni notamment) réputés comme étant des perturbateurs de l'homéostasie du Ca2+, sont susceptibles de faciliter son entrée dans les cellules. C'est pourquoi, la bioaccumulation du Cd est sensible à la dureté de l'eau (Perceval et al., 2002). Malgré tout, afin d'expliquer cette importante proportion de Cd intra-cytosolique, il paraît nécessaire de tenir compte de la forme de stockage des ETM. En effet, le Cd est généralement pris en charge par les métallothionéines, protéines intra-cytosoliques, dont la fonction est de séquestrer les ETM présents dans cette fraction soluble afin de réduire leur potentiel toxique. Ces protéines disposant d'un faible turnover de dégradation permettent de stocker des concentrations croissantes en Cd. Ceci explique les proportions élevées en Cd intra-cytosolique relevées (Fraysse et al., 2006 in Geffard et al., 2010) sans toutefois qu'elles n'impliquent d'effets toxiques sur les organismes.

Concernant le Co, en début d'exposition, les individus des deux traitements possèdent des concentrations totales identiques, avec une concentration interne en Co plus élevée chez les

individus SWISS que chez les CTRL. L'internalisation des concentrations en Co semble donc facilitée par la voie du système digestif. Après observation des profils de répartition du Cu et du Co, il a été observé que lorsque la concentration interne en Co augmente, la concentration en Cu intra-S diminue. De même, il est constaté que cette tendance est conservée en comparant entre eux les profils de fractionnement du Co et du Cu en fonction du traitement. L'internalisation du Co est donc susceptible d'être liée aux systèmes de transport et de liaison du Cu, élément essentiel. Malheureusement aucun fait similaire n'a été relaté dans la bibliographie étudiée, d'autres investigations semblent donc nécessaires afin de confirmer cette hypothèse.

Malgré l'exposition élevée des organismes SWISS aux sédiments et à l'eau contaminés par le Zn et le Mn, la répartition de ces éléments essentiels au sein des deux fractions d'intérêt, est sensiblement identique chez les individus des deux traitements. Il sera toutefois remarqué que, tenant compte des concentrations totales en Mn supérieures chez les individus CTRL, la proportion en Mn intra-cytosolique y est légèrement supérieure. Ces deux éléments semblent donc soumis à des mécanismes de régulation particulièrement rapides et efficaces qui permettent de maintenir des concentrations cytosoliques optimales chez les organismes étudiés, certainement en séquestrant ces éléments au sein de la fraction insoluble (MRG). En effet, il a été reporté par Van Hattum et al. (1993) que lors d'une expérimentation sur Asellus Aquaticus, cet organisme était capable d'excréter une proportion significative de la charge en Zn accumulée au sein de la fraction totale afin de la conserver entre un optimum de 70 et 150 μ g.g⁻¹ MS. Ainsi, Bonneris et al. (2005) ont indiqué que chez un bivalve de la famille des Unionidae, le Zn était recensé à 63 % au sein de la fraction insoluble des glandes digestives. Ce qui semble correspondre à ce qui est observé dans notre étude avec 55% du Zn accumulé au sein de la fraction P des Chironomidae. Le Mn y est également stocké en majeure partie. En effet, en termes de quantité de matière, les concentrations intra-S en Mn sont identiques entre les traitements et ce tout au long de l'exposition. Cet élément essentiel, semble donc soumis à régulation au même titre que le Zn.

Les proportions en Cu observées au sein de la fraction insoluble (64 et 58 % en moyenne pour les traitements SWISS et CTRL) correspondent également aux observations de l'étude de **Bonneris** et al. (2005) avec 53% de la charge totale en Cu retrouvés dans la fraction P des glandes digestives des bivalves précédemment cités. Enfin, **Timmermans et al.** (1992) ont démontré qu'à

partir d'une concentration en Cu de (100 μ g.L⁻¹), ce dernier était significativement adsorbé sur l'exosquelette des Chironomidae, d'où l'augmentation des proportions en Cu au sein de la fraction insoluble après le début de l'exposition. Ainsi, ce mécanisme de remobilisation du Cu au niveau de la fraction insoluble participerait aux mécanismes de détoxication des individus.

C. riparius étant doté d'un développement larvaire isomorphe (ratio longueur/masse constant) lorsqu'il se déroule en contexte de non contamination (Péry and Garric, 2006), l'étude de ce paramètre est susceptible d'être un bon indicateur de l'effet toxique des contaminants sur l'intégrité des individus exposés. Dans notre étude, il peut être remarqué que ce ratio n'est pas constant chez les individus SWISS contrairement aux individus CTRL. Hors, deux scénarii, sont susceptibles d'expliquer cet évènement : I) la présence d'un élément toxique au sein d'un organisme est susceptible de modifier l'allocation énergétique attribuée à la croissance au profit de stratégies de détoxification (Kooijman et al., 2009), et II) l'assimilation des ETM dans la fraction cytosolique est susceptible de conduire à la saturation des mécanismes de détoxication. Les ETM peuvent alors interagir avec des sites d'action toxique (enzyme-like proteins) et perturber la physiologie de l'organisme. Malgré tout, la faible évolution de la croissance des larves (<< à la référence de 1,72 mm.j⁻¹ pour les mâles et 2 ,21 mm.j⁻¹ pour les femelles de stade IV (Péry et al. (2003)) de Chironomidae ne peut pas seulement être reliée à ces concentrations en ETM relevés (aussi importante qu'elles soient). En effet, la température du bassin étant faible, elle est susceptible d'avoir négativement influencé la croissance des larves en induisant le ralentissement de leur métabolisme, qui par la même occasion est susceptible de réduire les flux d'assimilation d'ETM.

Ainsi, les risques de toxicité directe pour les organismes et de transfert dans les réseaux trophiques étant étroitement liés au compartiment et à la forme de stockage des ETM (**Wallace et al., 2003; Wallace and Luoma, 2003**) il est nécessaire d'appréhender cette notion de répartition différentielle des ETM. En particulier dans le cadre d'études *in-situ* afin d'appréhender le comportement des contaminants sous l'influence des conditions environnementales (variations saisonnières) et de définir des concentrations en contaminants impliquant de réels effets néfastes sur les écosystèmes aquatiques. Ainsi, dans cette optique il serait intéressant d'observer la ségrégation des ETM, en conditions in-situ, à des échelles plus fines afin de distinguer les fractions toxicologiquement sensibles aux ETM : les MSF (Metal-Sensitive Fractions comprenant

les mitochondries, lysosomes, noyau, réticulum endoplasmiques...) et la fraction visant à réduire la toxicité de ces derniers : BDM (Biologically Detoxified Metal comprenant les granules riches en ETM, concrétions Ca^{2+} , métallothionéines...) (**Wallace et al., 2003**). Cette approche permettrait d'avoir une meilleure définition des relations entre bioaccumulation des ETM et perturbations physiologique des organismes (Gimbert et al., in prep), mais aussi, dans le même temps d'estimer la part d'ETM accumulés par les invertébrés aquatique (*C. riparius*) qui est potentiellement transférable à leur prédateurs (fraction TAM : trophically available métal comprenant les organites, enzymes et metallothionéines) (**Wallace and Luoma, 2003**).

Conclusion

Notre étude a démontré qu'au sein du bassin de collecte des lixiviats, les ETM sont faiblement accumulés dans le Chironomidae. Ceci est susceptible d'être en partie lié à la faible température de l'eau du bassin de lagunage qui implique le ralentissement du métabolisme des organismes exposés et donc des flux d'assimilation des ETM. La faible accumulation des ETM peut aussi être liée aux mécanismes de diminution de leur biodisponibilité qui dépendent des conditions environnementales et donc des variations saisonnières (pH en relation avec la température qui influe sur la spéciation des ETM et donc leur biodisponibilité, pluviométrie l'un des moteurs des phénomènes de lixiviation, ...) Malgré tout, les concentrations élevées en ETM recensées au sein du milieu sont susceptibles d'influencer négativement l'intégrité des organismes. En effet, Il a été constaté que l'origine de la contamination est multiple (eau, sédiment et MES). Ainsi, il a été observé en particulier chez les organismes exposés à ces trois sources de contamination, que le ratio masse / longueur n'était pas constant durant toute l'exposition. La présence des ETM au sein des organismes est susceptible d'avoir perturbé la physiologie des Chironomidae exposés soit en modifiant l'allocation énergétique attribuée à la croissance au profit de stratégies de détoxification ou bien en entrant en interaction avec des sites d'action toxique (enzyme-like proteins).

Afin d'être plus catégorique et d'estimer des taux de transfert de contaminants aux organismes prédateurs des macro-invertébrés sur le site de la décharge, il paraît nécessaire d'appréhender les effets des variations des conditions environnementales sur la biodisponibilité des ETM, et aussi d'effectuer une analyse plus fine du cloisonnement des ETM au sein des organismes en distinguant les fractions cellulaires toxicologiquement sensibles et celles visant à réduire la toxicité des contaminants.

Chapitre 9

Étude de la bioaccumulation des éléments traces métalliques dans les différents tissus du gardon (Rutilus rutilus)

9.1 Introduction

L'accumulation d'éléments-traces métalliques (ETM) chez des poissons vivant dans des eaux contaminées dépend de nombreux facteurs, tels que le contenu des éléments présents dans l'eau, les organismes nutritifs, les caractéristiques physico-chimiques de l'habitat (pH, salinité.....) et de la durée de l'exposition. La quantité totale et la distribution des ETM dans les poissons est également liée à l'espèce, l'âge et la taille des individus, l'alimentation, les habitudes, l'affinité vis à vis de tissus particuliers, les différentes absorptions, les dépôts, l'excrétion, et les susceptibilités individuelles (Hakanson 1984; Jezierska et Witeska 2001). Une relation claire entre des éléments contaminant présents dans les sédiments et ceux retrouvés chez des poissons a rarement été établie sauf si les éléments sont présents en forte concentration (Gurierri 1998; Cain et al., 2000; Martinez et al., 2002; Smolders et al. 2003).

Lorsqu'on analyse l'environnement aquatique en référence à des concentrations de métaux lourds, leur toxicité et la biodisponibilité pour les organismes aquatiques, il faut se rappeler que les sédiments sont les transporteurs et les sources potentielles de contaminants (**Calmano et al., 1982, Swiderska-Bróz 1993**). Les processus d'échange des xénobiotiques sélectionnés entre les sédiments et l'eau sont d'une importance cruciale pour l'évaluation de la contamination potentielle de l'environnement et des hydrobios (**Calmano et al., 1982**). Une augmentation des concentrations en métaux lourds dans l'eau est directement liée à leur contenu dans les sédiments, ce qui influe sur la quantité bio-accumulée dans les poissons. Les métaux peuvent pénétrer par le tractus gastro-intestinal, la peau et les branchies; ils peuvent être directement assimilables avec l'eau, ou indirectement avec de la nourriture à travers le tractus gastro-intestinal.

Les métaux traces présents dans les environnements aquatiques peuvent être d'origine naturelle dans des roches et des sols ou résultant des activités anthropiques comme par exemple l'industrie, les décharges urbaines, l'agriculture, le ruissellement, les mines, l'élimination des déchets solides et les dépôts atmosphériques (**Bradl, 2005**). À la différence d'autres polluants d'origine organique, les métaux ne sont pas dégradés ou éliminés par les écosystèmes (**Rajkowska et Protasowicki, 2013**). Ils s'accumulent donc dans les sédiments et les organismes (**Zoumis et al., 2001**). Certains métaux tels que le manganèse, le zinc, le cuivre, le fer et le nickel sont des éléments essentiels avec un rôle reconnu dans les systèmes biologiques et pour le métabolisme des organismes aquatiques lorsqu'ils sont présents en faible concentration (**Clark, 2001**).

D'autres, comme le cadmium, le plomb et l'arsenic, sont parmi les métaux non essentiels les plus toxiques (**Canli et Atli, 2003**). Même essentiels, les métaux peuvent être toxiques pour les activités biologiques des organismes à certaines concentrations (**Kucuksezgin et al., 2006**).

Les poissons occupent normalement une position élevée dans les réseaux trophiques aquatiques, l'accumulation de plusieurs types de contaminant dans leurs tissus, y compris des éléments lourds, constitue un véritable problème (**Noël et al., 2013**). Ainsi, les métaux lourds représentent un risque potentiel, non seulement pour les poissons eux-mêmes mais aussi pour les oiseaux piscivores, les mammifères et même les êtres humains (**Adams et al., 1992**). La biodisponibilité et la bioaccumulation des métaux traces dans les poissons, dépend donc des concentrations dans l'eau et le reste de l'écosystème, par exemple dans les algues, les invertébrés et les sédiments, ces derniers étant ingérés avec de la nourriture par les poissons de fond. Cependant, il n'existe pas obligatoirement une proportionnalité directe entre les concentrations d'ETM dans l'eau et les niveaux de bioaccumulation dans les organismes aquatiques (**Andres et al., 2000; Yi et Zhang, 2012**).

Les organismes aquatiques comme les poissons accumulent beaucoup de contaminants dans leurs tissus et amplifient leur rôle dans la chaîne alimentaire (**Edem Christopher et al., 2009**). Par conséquent, il existe un danger potentiel pour la santé des personnes qui consomment des poissons contaminés par des métaux, la catastrophe de Minamata en est un bon exemple. À cet égard, les poissons et les organismes aquatiques sont considérés comme d'excellents bio-indicateurs pour mesurer l'abondance et la disponibilité des métaux dans l'environnement aquatique (**Pandey et al., 2014**). En outre, les poissons sont considérés comme des biomarqueurs fondamentaux pour surveiller la contamination en métaux lourds dans l'écosystème aquatique et ceci pour plusieurs raisons importantes :

1- Le poisson occupe un niveau trophique supérieur dans un écosystème aquatique.

2- La toxicité des métaux affecte négativement le comportement physique et physiologique du poisson.

3- Le poisson est un constituant important de l'alimentation humaine dans le monde entier.

Plusieurs facteurs jouent un rôle clé dans le contrôle de l'accumulation et de la toxicité des métaux sur les organismes aquatiques et les poissons en particulier. Ces facteurs sont liés à des paramètres physico-chimiques et biologiques (**Shazili et al., 2006**).

Les paramètres physico-chimiques sont la température, l'oxygène dissous, la dureté, l'alcalinité, la concentration en ion hydrogène (pH), la salinité, la présence de particules en suspension et la quantité de carbone organique dissous. Les paramètres biologiques sont le cycle de vie de l'organisme, les variations saisonnières, la spécificité des espèces, des organes et la contamination par les aliments (**Edem Christopher et al., 2009**).

9.2 Présentation du gardon Rutilus rutilus (Linnaeus 1758)

9.2.1 Systématique

Afin de définir la position systématique du gardon introduit dans la 4^{ème} lagune du site de la décharge d'Étueffont nous avons utilisé la classification donnée par **Nelson** (**1994**).

Phylum : CORDES

Super-classe : GNATHOSTOME

Classe : OSTEICHTYENS

Sous-classe : ACTINOPTERYGIEN

Infra-classe : TELEOSTEENS

Ordre : CYPRINIFORMES

Sous-ordre : CYPRINOÏDES

Famille : CYPRINIDÉS

Genre : Rutilus

Espèce : rutilus (Linnaeus 1758)

9.2.2 Morphologie et anatomie (Figure 9.1)

Taille : moyenne 15 - 20 cm, maximum 50 cm.Poids : moyen 100 g, maximum 2 kg.

Description physique : le gardon a un corps assez élancé, et une bouche étroite. Sa nageoire dorsale débute à l'aplomb des nageoires pelviennes. Il a les yeux rouges, tandis que les nageoires pelviennes et l'anus ont une teinte rouge-orangée, les autres nageoires sont plutôt grisâtres. On peut facilement le confondre avec le rotengle, mais aussi avec le chevaine et la vandoise pour les plus petits individus (**Froese et Pauly ,2010 ; Kottelat et Freyhof 2007**).

Alimentation : omnivore, le gardon se nourrit d'insectes, de crustacés, de mollusques et de végétaux. Chez les adultes, le régime alimentaire est plutôt phytophage (plantes flétries, débris d'élodées, myriophylles, lentilles d'eau, charas, ou « gazon » de diatomées qui recouvre les roseaux, les souches et les pierres).

Les proies sont principalement sur les invertébrés benthiques, le zooplancton, le matériel végétal et les détritus (**Froese et Pauly, 2010**).



Figure 9.1: morphologie du gardon *Rutilus rutilus*.

Reproduction : lors de la reproduction, le mâle a des tubercules coniques sur tout le corps. Pour se reproduire le gardon s'approche des berges pourvues de végétation aquatique. Le frai se déroule d'avril à juin, lorsque la température de l'eau atteint 10°C. Des hybridations sont courantes avec la brème, le rotengle, et parfois avec l'ablette, le chevaine ou le hotu. La femelle pond en moyenne 350 000 œufs par kg, en une fois, qui sont déposés dans la végétation ou sur les pierres. L'incubation dure de 4 à 10 jours. Les œufs de couleur jaune pâle sont trouvés attachés à la végétation et aux racines des arbres (**Pinder 2001**).

Maturité sexuelle : 2 à 3 ans pour les mâles, et 3 à 4 ans pour les femelles.

Durée de vie : en moyenne 10 ans, maximum 14 ans.

Habitat : espèce grégaire, on le retrouve dans les milieux lentiques et la partie inférieures des rivières. Il supporte les eaux de qualité médiocre voire polluée. Il est peu sensible aux variations de température et de salinité, c'est pourquoi on le retrouve parfois dans les estuaires.

9.3 Noms vernaculaires : en France, le gardon porte en relation avec la région les noms vernaculaires de rousse en Champagne, Franche-Comté et Lorraine, de roche dans le nord du pays et de Rottel en Alsace.

En Angleterre le nom de roach.

En Allemagne, de rotauge ou ploetze.

En Italie, pigo, scardola.

En Espagne, de bolla.

En Pologne "płoć" ou "płotka".

9.4 Distribution globale

Le roach est largement distribué en Europe dans l'eau douce, il est capturé avec des espèces généralement sombre (**OKGERMAN et al., 2009**). Les poissons vivent dans presque tous les types de masses d'eau, des grands lacs, de lagunes côtières saumâtres et les rivières et lagunes (**RACZYŃSKI et al., 2008**). Leur distribution recouvre une grande variété d'habitats, principalement dans les zones de basses terres. Les plus abondants se retrouvent dans les lacs

riches en nutriments et dans les rivières de taille moyenne et les marigots. Le gardon est probablement le poisson le plus commun des cours d'eau de deuxième catégorie (zone à brème). Il est présent en Europe et particulièrement en France, aussi bien dans les étangs que dans les rivières ou les fleuves de basse et moyenne altitude (Figure 8.2). Il supporte des eaux de qualité moyenne et est peu sensible aux variations de température et de salinité, aussi on le retrouve parfois en estuaire (**Keith et al., 2011**).



Figure 9.2 : distribution mondiale de *R. rutilus*. Carte du GBIF (2010).

9.5 Risques sanitaires, toxicologiques et écotoxicologiques

Quand il vit ou a vécu dans une eau polluée ou en présence de sédiments pollués, le gardon fait partie des poissons reconnus comme étant faiblement bioaccumulateurs.

En raison de sa capacité à bioconcentrer les métaux lourds, certains métalloïdes ou des polluants peu biodégradables tels que les PCB, les furanes ou les dioxines, il peut donc - dans certains milieux aquatiques pollués - être durablement ou provisoirement interdit de pêche, de détention et de toute commercialisation.

8.6 Matériels et méthodes

Des campagnes de pêche du gardon *Rutilus rutilus* ont été réalisées au niveau des lagunes 4 du système de traitement par lagunage naturel sur le site d'Étueffont. Trente-huit échantillons de poissons utilisés pour cette étude ont été recueillis dans la lagune 4, en avril et juin 2016. Une fois pêchés à l'aide d'une canne à pêche les spécimens sont rapidement enrobés dans des sacs en polyéthylène puis mis dans une glacière. Au laboratoire une fois les mesures biométriques effectuées en longueur (\pm 0,1 cm) et en masse (\pm 1 mg) les poissons sont conservés à -20°C jusqu'à la dissection.

9.6.1 Technique de dissection

La dissection est réalisée à l'aide d'instruments stérilisés par autoclavage. La figure ci-dessous présente les emplacements des incisions sur le gardon vu de dessous (Figure 9.3).

La procédure comprend les étapes suivantes :

- Inciser la paroi abdominale ½ cm en avant de l'anus (1).
- Inciser transversalement la paroi abdominale (1-2) en évitant soigneusement de léser les organes sous-jacents.
- Poursuivre l'incision sur la ligne médiane jusqu'à l'extrémité antérieure des fentes operculaires (2-3 puis 1-4) en protégeant les organes sous-jacents.
- Ecarter doucement les deux volets latéraux ainsi obtenus.
- Epingler les deux volets latéraux.
- Ecarter et épingler les opercules.



Figure 9.3 : emplacement des incisions.

Quatre tissus ont été prélevés: la chair (muscle) les arêtes le foie et les branchies (Figure 9.4)



- Les branchies sont situées à l'avant, sous les opercules,

- Le foie est également situé dans la partie antérieure, en arrière du cœur.

Figure 9.4 : vue latérale gauche résumant la position des principaux organes / appareils chez le gardon.

Une fois extraits, on détermine leur masse fraîche et on mesure les masses sèches après déshydratation pendant 72 heures à 60°C à l'étuve.

Les résultats des concentrations des ETMs au niveau des différents tissus sont exprimés en mg kg⁻¹ MS.

9.6.2 Analyse des éléments traces métalliques

Après déshydratation environ 1 g de chaque échantillon est placé dans un tube de digestion de 50 ml avec 6 ml d'acide nitrique HNO₃ et 5 ml d'eau ultra-pure. Après minéralisation à 105°C pendant 3 heures dans un HOTBLOCK, les solutions sont diluées jusqu'à 20 ml de volume final.

L'eau ultra-pure est utilisée tout au long de l'étude (**Sandroni et al., 2003; Tuzen, 2003**). La mesure des concentrations en ETMs est réalisée à l'aide d'un spectromètre d'émission à plasma ICP/OES (Varians 720-ES). Les dosages sont adaptés à la norme NF EN ISO 15587-2 (2002). Le DROM-3 est utilisé comme matériel de référence.

9.6.3 Le Facteur de Transfert (TF)

Le facteur de transfert dans les tissus des poissons de l'écosystème aquatique, qui comprend l'eau et des sédiments, a été calculé d'après Kalfakakour et Akrida-Demertzi (2000) et Rashed (2001) comme suit:

 $TF = \frac{M \ tissue}{M \ sédiments \ ou \ de \ l'eau}$

Alors que « M tissue » est la concentration en métal dans les tissus des poissons et «M sédiments ou de l'eau », la concentration en métal dans les sédiments ou dans l'eau.

9.7 Résultats et discussion

Les résultats de l'analyse des ETMs au niveau des tissus (branchies, foie, arêtes et muscles) du gardon *R. rutilus* sont présentés dans le Tableau 9.1 et indiquent des affinités différentes des éléments trace en fonction des organes du poisson.

Au cours des deux saisons, les concentrations moyennes en métaux lourds dans les tissus ont tendance à diminuer, selon l'élément comme suit : Zn > Cu > Ni > Cd, généralement avec des valeurs plus élevées en juin qu'en avril (diminution de l'ordre de classement dans le foie : Zn > Cu > Ni > Cd). Les concentrations en métaux dans les arêtes ont diminué dans l'ordre suivant : $Zn > Ni \approx Cd$ > Cu en avril et Zn> $Ni > Cd \approx Cu$ en juin, et dans les branchies et les muscles Zn > Cu > Ni > Cd en avril et en juin. L'ordre de la bioaccumulation de ces métaux peut être liée au fait que les différents métaux ont tendance à s'accumuler de façon différente dans les tissus de

différentes espèces de poissons (**Akan et al., 2012**). Le modèle d'accumulation de métal dans le tissu du gardon était, par ordre décroissant:

Pour Zn : branchies > arêtes > foie > muscles en avril et juin.

Pour Ni : branchies > arêtes > foie > muscles en avril

Pour Cu : muscles > arêtes > foie > branchies en avril

Pour Cd : arêtes > branchies > foie > muscles en avril

Le modèle d'accumulation du métal dans le tissu du gardon était en juin, par ordre décroissant:

Pour Ni : branchies > arêtes > foie > muscles

Pour Cu : branchies > foie > muscles > arêtes

Pour Cd : arêtes > branchies > foie > muscles

Ce fait est évident d'après la tendance des métaux à accumuler dans différents tissus et organes, et que l'accumulation est différente pour les différents métaux. Les différences dans la distribution des métaux lourds dans les organes sont probablement dues à des différences de composition dans les tissus et les organes des poissons, en particulier les protéines et les lipides, contenus dans le sang (**Sjahrul, 2014**). Et peut-être aussi à l'âge de poissons ou les habite de vie de période. Les niveaux de métaux ont varié dans les tissus de poissons, qui dépendent de divers facteurs tels que son habitat, le comportement d'alimentation, la migration et la disponibilité des métaux dans l'eau et le sédiment.

Différentes voies d'accumulation de métaux dans les poissons peuvent comprendre l'ingestion de nourriture, de particules en suspension, l'échange d'ions métalliques par les branchies et la peau (**Nussey, 2000**). Les niveaux de métaux traces dans les différents organes du poisson sont utilisés comme un indice de la pollution par les métaux dans un écosystème, indice considéré comme un outil important pour mettre en évidence le rôle de concentrations élevées en métaux dans les organismes aquatiques (**Tarrio et al., 1991**).

La concentration la plus élevée en zinc (111.76 mg. kg⁻¹) a été mesurée dans les branchies, tandis que le niveau le plus bas (45.93 mg. kg⁻¹) a été détecté dans les muscles.

Dans cette étude, le zinc est l'élément le plus concentré au niveau de tous les organes analysés, suivi par le Ni, le Cd et le Cu. Le niveau en ETMs est connu pour varier chez les poissons en fonction de divers facteurs tels que son habitat, le comportement alimentaire et la migration, dans la même zone éventuellement (**Andres et al., 2000 ; Canli et Atli, 2003**). Le zinc est connu pour être impliqué dans la plupart des voies métaboliques chez les êtres humains et la carence en zinc peut entraîner une perte d'appétit, un retard de croissance, des changements de la peau et des anomalies immunologiques. Le zinc est très répandu parmi les organismes vivants, en raison de sa signification biologique. Le niveau de zinc maximum autorisé pour le poisson est de 50 mg. kg⁻¹ selon le Codex alimentaire (**Maff, 1995**).

Le cadmium est un élément non essentiel dans les aliments et dans les eaux naturelles, il peut causer des dommages, même à faible concentration, pour les reins et le foie. La concentration la plus élevée en cadmium (0.50 mg. kg⁻¹) a été mesurée dans les arêtes des échantillons de poisson, tandis que le niveau le plus bas (0.016 mg. kg⁻¹) a été détecté dans les muscles.

L'accumulation de cadmium dans le corps humain peut induire un dysfonctionnement rénal, des problèmes osseux et des troubles de la reproduction. Dans les échantillons analysés, les concentrations en cadmium étaient comprises entre (0.01-0.1 mg kg⁻¹ MS) en avril et juin. Notre étude a révélé des concentrations en dessous de la limite recommandée de 2,0 mg. kg⁻¹ pour les poissons et produits issus du poisson (**FAO / WHO, 1984**). L'ingestion de Cd peut rapidement causer des sensations de nausées, vomissements, crampes abdominales et maux de tête, ainsi que des diarrhées. La maladie « Itai itai » au Japon-a été identifiée parmi les personnes vivant dans les zones polluées en Cd; les organes cibles comprennent le foie, le placenta, les reins, les poumons, le cerveau et les os (**Reilly, 2002**). Les travaux de **Andres et al., (2000**) ont montré une diminution de la concentration en Cd dans l'ordre suivant (rein > foie > intestin > branchies > muscle) au niveau des gardons et perches dans la France.

La concentration la plus élevée en cuivre $(4.82 \text{ mg. kg}^{-1})$ a été mesurée dans les branchies, tandis que le niveau le plus bas $(0.53 \text{ mg. kg}^{-1})$ a été détecté dans les arêtes.

Le cuivre est essentiel pour une bonne santé mais un apport très élevé peut entraîner des problèmes au niveau du foie et des reins (**Ikem et Egiebor, 2005**). Dans cette étude, les concentrations en cuivre étaient comprises entre ($0.5 - 2.1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ MS}$). Le cuivre est un élément
essentiel de plusieurs enzymes et il est nécessaire pour la synthèse de l'hémoglobine. La toxicité du cuivre dans le poisson provient directement de l'eau par les branchies, la présente étude a montré l'accumulation similaire de cuivre dans les branchies en juin (**WHO**, **1989**).

La concentration en nickel à partir de l'analyse des branchies est présentée dans le (Tableau 8.1). Les concentrations de nickel dans les poissons ont été trouvées dans la gamme de 0.41 et 0.47 mg. kg⁻¹ en avril et juin. Les poissons sont connus pour accumuler le Ni dans différents tissus lorsqu'ils sont exposés à des niveaux élevés dans leur environnement (**Obasohan and Oronsaye**, **2004**). La concentration la plus élevée en nickel (0,78 mg. kg⁻¹) a été mesurée dans les branchies, tandis que le niveau le plus bas (0,21 mg. kg⁻¹) a été détecté dans le foie. L'apport journalier recommandé est de 100-300 μ g kg⁻¹ de poids corporel (WHO (1984)). L'absorption du nickel étant généralement très faible, sa toxicité chez les êtres humains reste un phénomène rare (**ÖZDEN**, **2008**).

Les branchies sont la cible principale d'une contamination directe, elles jouent un rôle important dans l'absorption des métaux, le stockage, le transfert aux organes internes via le transport de sang, ainsi que l'excrétion (**Segner, 1987**).

La variation interspécifique dans l'accumulation des éléments traces dépend de nombreux facteurs tels que les taux différents d'assimilation des métaux lourds dans l'eau et la nourriture, ainsi que de la répartition des métaux dans différents organes et tissus. Diverses espèces de poisson ont une sensibilité différente aux métaux lourds et une capacité différente pour le contrôle homéostatique, la désintoxication et le rejet (**Allen-Gill et Martynov, 1995**).

En général, toutes les corrélations entre la longueur des poissons, le poids, l'âge et la concentration des éléments traces dans les tissus étudiés du gardon et de barets étaient très faibles (Szarek-Gwiazda et Amirowicz, 2004), Il y a peu de données dans la littérature décrivant la relation entre la longueur, le poids ou l'âge et les concentrations d'éléments traces dans les tissus des poissons, et les résultats sont souvent divergents. La relation entre la longueur et le contenu de l'élément trace dans les tissus de la perche et du gardon a été étudié par (Carru et al., 1996; Barak et Mason, 1990). Ces auteurs ont constaté l'absence de relation entre la longueur des gardons et la contamination en ETM dans leurs organes. La concentration de tous les éléments a diminué de manière significative avec la taille des poissons (Merciai et al., 2014).

9.7.1 Comparaison des valeurs en ETMs au niveau du muscle du gardon de la présente étude par rapport aux valeurs trouvées dans la littérature

La moyenne des concentrations en métaux lourds enregistrées au cours de la présente étude a été comparée à celle publiée dans d'autres études environnementales en utilisant *R. rutilus* comme bioindicateur, mais aussi des lignes directrices internationales de référence (Tableau 9.2). Toutefois, même si l'espèce (*R. rutilus*) comparée est identique, il faut être très prudent lorsqu'on compare les analyses. En effet, des différences dans les conditions environnementales (température, pH) et les paramètres biologiques (taille, sexe, reproduction) peuvent être responsables de la variabilité dans l'accumulation des métaux lourds dans les tissus des poissons.

Étant donné qu'elle représente la partie consommée par l'homme on a choisi le muscle pour comparer les concentrations en ETM par rapport à celles trouvées dans la littérature. Le Cu et le Zn représentent les ETM essentiels et le Cd et le Ni représentent les ETM non-essentiels (**Ben Salem, 2014**). Lorsque l'on compare les concentrations en métaux lourds dans les muscles des gardons dans la lagune 4 avec des études antérieures, les concentrations en Cu et en Zn sont plus faibles que celles mesurées par **Ben Salem** (**2014**) au niveau du (site d'Étueffont) soit 1.04 et 74.10 mg kg⁻¹ MS, respectivement pour le Cu et le Zn. Les concentration en Cu, Zn, Cd et Ni sont plus élevées que celles mesurées par **Zhelyazkov et al.**, (**2014**) au niveau du muscle de *R. rutilus* (lagune de Zhrebchevo, Bulgarie) soit 0.69, 5.46, 0.01, 0.4 mg kg⁻¹ MS pour le Cu, le Zn, le Cd et le Ni respectivement. Concernant les concentrations en cadmium les valeurs sont dans la gamme de celles mesurées par **Chevreuil et al.** (**1995**) et **Merciai et al.**, (**2014**). Les concentrations en nickel sont comparables aux concentrations mesurées par **Zhelyazkov et al.**, (**2014**) dans une rivière méditerranéenne en Espagne. Cela indique qui nous poissons est légèrement plus contaminés que ceux dans systèmes aquatiques naturels.

9.7.2 Le Facteur de Transfert (FT)

Le facteur de transfert (FT) est calculé uniquement pour les éléments détectés dans les différents organes de *R. rutilus*.

Dans les organes de *R. rutilus* (orgue / eau), le FT est supérieur à 1 pour le Zn (Tableau 9.3), ce qui confirme une accumulation intensive de ce métal à partir de l'eau dans l'espèce étudiée. Le plus haut rapport orgue / eau a été déterminé pour le Zn en avril dans les branchies tandis que la valeur la plus faible a été trouvée pour le Ni dans les muscles. Le FT du Cd, du Cu et du Ni dans l'eau est resté < 1 dans tous les organes analysés, quelle que soit la saison. Les FTs du Zn étaient > 1 dans les organes de *R. rutilus*.

Le FT des sédiments a été < 1 pour toute l'analyse des métaux dans les Organes de *R. rutilus*. Elle confirme que l'accumulation d'éléments du sédiment dans ces organes est limitée.

Le (FT) a été déterminé pour tous les éléments étudiés dans les tissus des poissons à la fois pour l'eau et les sédiments. Les FTs de métaux lourds dans l'eau se sont avérés supérieurs à ceux des sédiments (sauf pour le Cd), avec des FTs < 1 dans les sédiments dans tous les organes des poissons. Les FTs déterminés dans la présente étude indiquent que les éléments bioaccumulés dans les poissons semblent provenir de l'eau.

Des résultats similaires ont également été obtenus par (**Kalfakakour et AkridaDemertzi 2000**) en Grèce avec le gardon ou par (**Ben Salem, 2014**) dans les lagunes d'Étueffont avec le gardon. Cependant, nous devons nous rappeler que ces observations ne sont pas nécessairement liées à un transfert élevé à partir de l'eau. Les concentrations observées dans les tissus des poissons peuvent également dépendre de leur comportement alimentaire et de la teneur en métaux dans les organismes benthiques vivant dans les sédiments pollués. De plus, la présente étude montre que l'eau circulant dans le lagune 4 du système de lagunage d'Etueffont n'a pas modifié l'écosystème aquatique de Gros-Près et que le ruisseau reste clairement adapté pour la pêche et sans danger pour la consommation. Cependant, il est évident que la bioaccumulation des métaux dans les tissus des poissons peut potentiellement s'aggraver. Cependant la comparaison avec de **Ben Salem (2014)** plus ancienne montré que les concentrations semblent diminuer.

Tableau 9.1 : concentration des ETMs au niveau des différents tissus du gardon *R. rutilus* prélevé au niveau de la quatrième lagune (en avril et juin 2016) du site de la décharge d'Étueffont (Moyenne ± écart-type) exprimée en mg kg⁻¹ MS (Matière Sèche).

	Avril				Juin			
	Branchies	Foie	Arêtes	muscle	Branchies	Foie	Arêtes	muscle
Cd	0.41±0.22	0.13±0.20	0.50±0.16	0.016±0.02	0.47±0.11	0.16±0.26	0.53±0.14	0.04±0.10
Ni	0.78±0.77	0.21±0.23	0.50±0.39	0.018±0.02	0.92±0.74	0.46±0.43	0.56±0.31	0.44±0.71
Cu	4.32±1.49	4.41±1.58	0.48±0.29	0.99±43.72	4.82±0.88	4.75±0.99	0.53±0.25	1.02±1.05
Zn	111.76±33.71	59.34±14.39	82.11±14.71	44.77±19.44	112.01±32.87	59.62±10.43	83.41±19.35	45.93±16.57

Tableau 9.2 : concentration en Cd, Cu, Ni et Zn (exprimée en mg kg⁻¹ MS) au niveau du muscle de *R. rutilus* en comparaison avec des concentrations trouvées dans la littérature.

Sites	Pays	Espèces	État du milieu	Cu	Zn	Cd	Ni	Références
Étueffont L4	France	R. rutilus		1.02	45.93	0.04	0.44	Présente étude
Étueffont L4	France	R. rutilus		1.04	74.10	-	-	Ben Salem 2014
Rivière balloy	France	R. rutilus	Pollué	1.9	72	0.06	-	Chevreuil et al.,
Rivière Epinay	France	R. rutilus	Pollué	1.8	120	0.46	-	1995
Zhrebchevo lagune	Bulgarie	R. rutilus		0.69	5.46	0.01	0.4	Zhelyazkov et al., 2014
Rivière méditerranéenne	Espagne	R. rutilus		1.6	60.7	0.04	0.36	Merciai et al., 2014
Rivière Oder	Allemagne	R. rutilus	Pollué	2.38	21.8	0.32	-	Bochenek et al., 2008

		Branchies	Foie	Arêtes	muscle
Cd	FT pour l'eau	0.20	0.06	0.25	0.008
	FT pour sédiment	0.41	0.13	0.50	0.016
Ni	FT pour l'eau	0.141	0.038	0.09	0.003
	FT pour sédiment	0.019	0.005	0.012	0.0004
Cu	FT pour l'eau	0.30	0.315	0.031	0.07
	FT pour sédiment	0.027	0.028	0.003	0.006
Zn	FT pour l'eau	2.865	1.525	2.105	1.147
	FT pour sédiment	0.338	0.179	0.248	0.135

Tableau 9.3 : facteur de transfert (avril 2016) des métaux dans les différents tissus de R. rutilus.

Conclusions

La présente étude montre des variations dans les niveaux de métaux accumulés dans les tissus des gardons. Les poissons sont souvent au sommet de la chaîne trophique des écosystèmes aquatiques et ils peuvent donc concentrer de grandes quantités de métaux présents dans l'eau. De multiples facteurs, y compris la saison, la nourriture, les propriétés chimiques de l'eau ou les sédiments peuvent jouer un rôle important dans l'accumulation de métaux toxiques.

Les concentrations en Zn, Cu, Pb et Cd ont été déterminées par spectrométrie d'absorption atomique. On a constaté que les métaux ont tendance à s'accumuler de façon différente en fonction de la nature de l'élément métallique, des tissus et organes. Les concentrations en éléments accumulés dans les gardons sont plus élevées dans les branchies. Au niveau du muscle et des autres organes les concentrations en zinc dépassent les concentrations limites 40 et 50 mg kg⁻¹ préconisées par la FAO (1983) FAO/WHO (1989).

Les concentrations moyennes en métaux dans les trente-huit poissons analysés se trouvent plus élevées dans le foie et les branchies que dans le tissu musculaire.

Le gardon participe grandement à minimiser les concentrations en métaux lourds générées dans le lixiviat en enlevant des détritus, en consommant le phytoplancton et le zooplancton, qui contiennent ces polluants. Les poissons sont donc des éléments importants dans le processus épuratoire du site tout comme *Taypha latifolia*.

Conclusion générale

L'Installation de Stockage de Déchets Non Dangereux (ISDND) d'Étueffont a cessé son exploitation en 2002. Elle a été réhabilitée par la suite ; réhabilitation achevée fin 2007. Le suivi post-exploitation de l'ISDND est régie par la réglementation des installations classées nationale et par l'Arrêté préfectoral n°2185 de 1992 modifié par l'Arrêté préfectoral complémentaire n°1416 du 10 août 1998, et celui du 11 mai 2016 (SCAD-2016-05-003).

L'objectif de ce travail de thèse est d'évaluer le degré de contamination des différents compartiments du site de la décharge d'Étueffont à savoir: les lixiviats, les sédiments, l'eau souterraine, les poissons, les insectes et les microorganismes de la décharge d'Étueffont. Ce travail de recherche est structuré en neuf chapitres.

Le chapitre 3 est consacré à l'analyse de la qualité des lixiviats dans les lagunes, Nouveau casier, Sous casier, Ancienne décharge, Ruisseau du Gros Pré et Ruisseau Mont Bonnet. Les résultats de la présente étude montre une diminution temporelle générale des teneurs en ETMs (éléments traces métalliques) (Al, Ag, As, B, Cd, Cr, Cu, Sn, Fe, Mn, Ni, Pb, Se et Zn) ainsi que des autres éléments chimiques (P, PO₄, NH₄, NO₂, NO₃, Ca, K, Mg, Na, Cl, F, HCO₃ et SO₄) et physique (conductivité) depuis l'amont vers l'aval du système de lagunage justifiant l'importance de ce dernier dans l'amélioration de la qualité du lixiviat. Notre étude montre également que le site de la décharge d'Étueffont est en phase méthanogène en raison d'une part d'un pH à tendance basique, mais avec une diminution notoire par rapport aux observatoires précédentes laissant envisager un fui proche du processus.

Les analyses montrent des teneurs en sortie du système de gestion et de traitement des lixiviats (lagune 4 aval) compatibles avec les valeurs réglementaires de l'Arrêté du 9 septembre 1997 relatif aux installations de stockage de déchets non dangereux (Annexe III) – et à l'Arrêté du 15 février 2016 (annexe I) applicable au 1er juillet.

Lors de cette campagne, les résultats obtenus sur la 1^{ème} partie de la lagune 1 (échantillon L1 Amont) présentent de fortes anomalies par rapport aux autres échantillons. Ainsi, des fortes concentrations en fer et en arsenic sont observées accompagnées par de nombreux autres éléments métalliques (aluminium, cadmium, chrome, cuivre, nickel, zinc, étain, calcium). La

demande chimique en oxygène dépasse la valeur comparative (critères minimaux admissibles de l'Arrêté du 9 sept. 1997), et le flux journalier, basé sur un débit mesuré qui ponctuellement, est supérieur à 100 kg/jour. (ce n'est pas le cas en sortie de la lagune 4). Une teneur forte en aluminium est observée dans l'échantillon L4 aval.

De même, les abattements calculés le sont pour les concentrations de la partie centrale de la lagune 1 (L1 milieu) et la partie aval de la lagune 4 (où tous les paramètres ont été analysés).

Le système fonctionne globalement bien avec des abattements le plus souvent de l'ordre de 50% entre la première lagune et la sortie de la 4^{ème} lagune. Selon les paramètres, l'abattement montre de fortes variations.

Sur les paramètres analysés en sortie du système, la quasi-totalité des teneurs est même compatible avec les valeurs seuils de l'Arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du Code de la santé publique, à l'exception des concentrations en aluminium et en fer, nettement supérieures. La forte teneur en aluminium sur le prélèvement L4 aval (seulement sur cet échantillon d'avril 2016) n'a pas été observée sur les campagnes précédentes.

Au 2^{ème} semestre 2014, nous avons observé un dépassement de la teneur en phénols dans le Gros Pré, en aval de l'ISDND. Aussi, des analyses de ce paramètre ont été ajoutées sur les rejets en milieu naturel, à savoir la sortie de la lagune 4 (ou lagune 4 aval pour cette campagne) et le sous-casier depuis le 1^{ème} semestre 2015.

Les résultats d'analyse sur les écoulements superficiels à l'aval de l'ISDND sont présentés. Seul un dépassement de la valeur des eaux brutes pour la production d'eau potable est observé pour le ruisseau du Mont Bonnet. La teneur en phénols du Gros Pré est égale à la limite de détection en laboratoire. Elle est inférieure aux valeurs de référence.

Comme lors de la campagne d'octobre 2015, l'indice phénols est inférieur à la limite de quantification en laboratoire $(25\mu g/l)$ pour ces 2 échantillons en avril 2016. Il semble que la présence de phénols observée en 2014 n'ait été que temporaire.

Le suivi de la cinétique d'accumulation en ETMs au niveau du sédiment des quatre lagunes du site de la décharge d'Étueffont, nous a permis de mettre en évidence l'importance de deux filtres de graviers installés au niveau de la première lagune pour le piégeage de ces éléments. Cela se traduit par une diminution considérable des teneurs en ETMs en passant de la première à la deuxième lagune et une diminution remarquable des teneurs en ETMs en allant de l'amont à l'aval du système, ceci pendant toute la période d'échantillonnage (octobre 2013 - avril 2016).

Concernant les boues, les teneurs observées sont comparées, quand elles existent, aux valeurs seuil de l'Arrêté du 8 janvier 1998 fixant les prescriptions techniques applicables aux épandages de boues sur les sols agricoles pris en application du décret n° 97-1133 du 8 décembre 1997 relatif à l'épandage des boues issues du traitement des eaux usées, et de l'Arrêté du 12 décembre 2014 relatif aux installations de stockage de déchets inertes.

Sur les paramètres analysés, lorsque les valeurs seuils existent, les teneurs sont largement inférieures aux valeurs seuils. Les boues sont peu chargées en ETMs notamment. Des anomalies sont observées sur la partie amont de la 1^{ème} lagune, avec des teneurs nettement plus fortes que sur les autres boues prélevées, tout en restant inférieures aux critères de l'arrêté du 8 janvier 1998, concernant l'épandage de boues.

Les résultats des analyses en laboratoire sur les eaux souterraines sont présentés Aucun des critères fixés par l'Arrêté du 15 février 2016 n'est dépassé. Seules les matières en suspension peuvent présenter des valeurs fortes à très élevées en PZ7, PZ70 et PZ90 (analyses réalisées sur des échantillons décantés et non filtrés).

Par rapport à la campagne d'octobre 2015, une tendance à la baisse sur la quasi-totalité des échantillons est observée pour la plupart des paramètres.

Certaines teneurs sont supérieures à ceux de l'Arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique. Les piézomètres les plus impactés sont :

- PZ7 en ce qui concerne le Pb.
- ▶ PZ50 sur le Ni.

De plus, des traces d'hydrocarbures apparaissent dans PZ3, PZ50, PZ7 et PZ30.

Du dichlorométhane (COHV) est présent dans les piézomètres PZ90, PZ80, PZ50 (amont), PZ40, PZ9 et PZ4 (dans l'ordre des concentrations décroissantes).

Les valeurs importantes d'indice phénols observées sur les campagnes précédentes (avril 2015 et novembre 2014) ne sont plus mises en évidence lors cette campagne. Le seuil de quantification détectable en laboratoire n'est dépassé pour aucun échantillon.

Des anomalies en nickel, plomb et zinc sont encore relevées dans le piézomètre amont (PZ50), avec des teneurs légèrement plus faibles que lors des campagnes précédentes. La position amont du piézomètre rend impossible un lien avec l'ISDND et soulignent une influence probable du fond géochimique.

Dans le cadre de cette étude, l'évaluation de la biodisponibilité et du potentiel de transfert des ETMs a été réalisée par une méthode de bioindication active à l'aide de larves de *Chironomus riparius*. Ce détritivore nématocère de la famille des Chironomidae, représentée par plus de 130 genres subdivisés en sous-genre et en guilde d'espèces, est caractérisé par une valence écologique assez large. Notre étude a démontré qu'au sein du bassin de collecte des lixiviats, les ETMs sont faiblement accumulés. Ceci est susceptible d'être en partie lié à la faible température de l'eau du bassin de lagunage qui implique le ralentissement du métabolisme des organismes exposés et donc des flux d'assimilation des ETMs. Les larves de *Chironomus riparius* ont été utilisées comme bioindicateurs de la qualité sédiments et de l'eau liée à leur contamination par les ETMs.

Afin d'être plus catégorique et dans l'estimation des taux de transfert de contaminants aux organismes prédateurs des macro-invertébrés sur le site de la décharge, il parait nécessaire d'appréhender les effets des variations des conditions environnementales sur la biodisponibilité des ETMs. Il est également nécessaire d'effectuer une analyse plus fine du cloisonnement des ETMs au sein des organismes en distinguant les fractions cellulaires toxicologiquement sensibles et celles visant à réduire la toxicité des contaminants.

Cette étude apporte de nouvelles informations sur les assemblages d'ultra- et de micro plancton ainsi que sur les procaryotes hétérotrophies en particulier sur leurs affinités écologiques des complexes lagunes écosystèmes et les piézomètres. Dans la lagune 1, on observe une faible abondance du phytoplancton eucaryote. Deux groupes de cellules de type nano-cyanobactéries, très peu présentes dans les autres prélèvements ont été identifiés. Cinq groupes de nanoeucaryotes bien définis sont présents dans la majorité des échantillons (hors piézomètres). Dans Gros-près, Mont-bonnet et Nouveau casier, il ya très peu de cellules autotrophes. Dans les piézomètres, seuls les groupes R10 et R11 sont représentés (nano phytoplancton) parfois en forte concentration.

Les concentrations en métaux lourds dans le sédiment du premier bassin du système de lagunage d'Etueffont semblent dépasser la capacité de tolérance de l'espèce *Typha latifolia*, cela conduit à des différences significatives dans la production de la biomasse aérienne et racinaire, sans pour autant éliminer cette espèce de ce bassin et ainsi permettre à cette lagune de jouer son rôle dans l'abattement en métaux lourds. De même, des différences significatives apparaissent dans d'autres paramètres morphologiques connexes.

La photosynthèse conduisant à la formation de composés organiques riches en énergie, elle est essentielle pour le développement du végétal et la production de biomasse. Malgré l'importance écologique de *Typha latifolia*, peu de données sont disponibles sur les caractéristiques photosynthétiques de cette espèce dans des conditions de stress métalliques. Ainsi, le travail de recherche effectué a été centré sur les effets des métaux lourds sur les échanges gazeux et la fluorescence des chlorophylles au cours de deux saisons : printemps et été, correspondant à deux phases physiologiques importantes, formation de nouveaux organes et production d'assimilats pour une mise en réserve.

Au cours de cette étude, nous avons pu observer que des concentrations élevées en métaux lourds induisent une baisse significative de la photosynthèse nette chez les plants en croissance dans le premier bassin du système en comparaison aux autres points de mesure et au contrôle (situé dans le ruisseau Gros Prés).

T. latifolia est une espèce tolérante vis à vis des fortes concentrations en éléments potentiellement phytotoxiques présents dans les lixiviats et accumulés dans les sédiments du système de lagunage d'Etueffont.

La surveillance en continu à long terme associée à des études complémentaires sur les macrophytes en croissance dans les quatre bassins interconnectés du système de lagunage

d'Etueffont sera nécessaire si l'on veut obtenir un aperçu des variations saisonnières et annuelles de bioaccumulation des métaux lourds et métalloïdes de *T. latifolia*.

L'étude de la bioaccumulation des ETMs au niveau de différents organes (muscle, foie, arêtes et branchies) des gardons (*Rutilus rutilus*) introduits dans les $2^{\text{ème}}$ et $4^{\text{ème}}$ lagunes de notre site expérimental a également été réalisée.

Les résultats de l'analyse des ETMs au niveau des différents tissus du gardon ont révélé des affinités différentes des éléments traces en fonction des organes du poisson. Au cours des deux saisons, les concentrations moyennes en métaux lourds dans les tissus ont tendance à diminuer, selon l'élément comme suit : Zn > Cu > Ni > Cd, généralement avec des valeurs plus élevées en juin qu'en avril (diminution de l'ordre de classement dans le foie : Zn > Cu > Ni > Cd). Les concentrations en métaux dans les arêtes ont diminué dans l'ordre suivant : $Zn > Ni \approx Cd > Cu$ en avril et Zn > Ni > Cd a Cu en juin. Notre étude montre que les gardons de la lagune 4 du système de traitement de la décharge d'Étueffont sont affectés par la toxicité induite par les teneurs élevées en ETMs essentiels.

Le gardon participe grandement à minimiser les concentrations en métaux lourds générées dans le lixiviat en enlevant des détritus, en consommant le phytoplancton et le zooplancton, qui contiennent ces polluants.

Finalement les résultats de cette étude ont démontré que :

1- Généralement il y a diminution temporelle des teneurs en ETMs ainsi que des autres éléments chimiques et physiques depuis l'amont vers l'aval du système de lagunage traduisant l'efficacité du système de lagunage dans le traitement des lixiviats.

2- Diminution globale de la plupart des concentrations des ETMs (L4 vs autres lagunes). Importance des deux filtres de graviers installés au niveau de la lère lagune.

3- Le panache de pollution dans les eaux souterraines est limité.

4- Les EMTs dans les tissus de *T. latifolia* sont plus élevés dans les parties racinaires que dans les parties aériennes. Par conséquent, l'utilisation de *T. latifolia* est recommandée pour les

programmes de bio-surveillance visant à fournir une évaluation quantitative de la qualité de l'eau et des sédiments.

5- Dans lagunes, les groups de Nanoeucaryotes étaient fortement représentés et dans PZ, seuls les groupes de nanocyanobactéries étaient fortement représentés. Les résultats de la cytométrie de flux indiquent que les dernières lagunes 3 et 4 présentent des compositions phytoplanctoniques proches de celles qui sont observées dans les lacs eutrophes, ce qui est un indicateur de la bonne efficacité de notre système de lagunage.

6- L'accumulation de plusieurs ETMs dans les tissus des larves peut représenter une charge importante potentiellement transférable aux chaînes alimentaires.

7- Le gardon semble être un bon bio-indicateur de la qualité des eaux et participe grandement à minimiser les concentrations de métaux lourds générés dans le lixiviat en enlevant des détritus, le phytoplancton et le zooplancton, qui contiennent tous ces polluants.

A

Abdel-Satar, A. M. and Elewa, A. A. (2001). Water Quality and Environmental Assessments of the River Nile at Rosetta branch. The Second International Conference and Exhibition for Life and Environment. 3-5, April, 2001: 136-164.

Abdo, M.H. (2002). Environmental studies on the Rosetta branch and some chemical applications on the area extend from El- Kanater El-Khyria to Kafr-El-Zyat city. Ph. D Thesis, Fac. of Sci., Ain Shams Univ., Cairo, Egypt.

Abu- Rukah, Y. and O. Al- Kofahi, (2001). The assessment of the effect of landfill leachate on ground-water quality a case study. El-Akader landfill site north Jordan, Arid Environ. 49, 615-630.

Acton, D. W. & Barker, J. F. (1992). 'In situ biodegradation potential of aromatic hydrocarbons in anaerobic groundwaters', Journal of Contaminant Hydrology, vol. 9, no. 4, pp. 325-352.

Adams, W.J., Kimerle, K.A., Barnett Jr., J.W., (1992). Sediment quality and aquatic life assessment. Environ. Sci. Technol. 26, 1865–1875, http://dx.doi.org/10.1021/ es00034a001.

Adebowale, K.O., Agunbiade, F.O. and Olu-Olawolabi, B.I. (2008). Impacts of natural and anthropogenic multiple sources of pollution on the environmental conditions of Ondo State Coastal Water, Nigeria. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 7(4): 2797-2811.

Adefemi, O.S., Olaofe and S.S. Asaolu, (2007). Seasonal variation in heavy metal distribution in the sediments of major dams in ekiti-state .Pake.J.Nutr, 6:705-707.

Adekunle, I.M., M.T. Adetunji, A.M. Gbadebo and O.B.Banjoko, (2007). Assessment of groundwater quality in a typical rural settlement in Southwest, Nigeria. Int. J. Environ. Res. Public Health, 4(4): 307-318.

ADEME (1999). Les installations de stockage des déchets ménagers et assimilés : techniques et recommandations. Ademe Editions, Paris, 106 pages et annexes.

Aderemi Adeolu O., Oriaku Ada V., Adewumi Gbenga A. and Otitoloju Adebayo A. (2011). Assessment of groundwater contamination by leachate near a municipal solid waste landfill. African Journal of Environmental Science and Technology Vol. 5(11), pp. 933-940.

Admiraal, W., Barranguet, C., Van Beusekom, S.A.M., Bleeker, E.A.J., Van den Ende, F.P.,Van der Geest, H.G., Groenendijk, D., Ivorra, N., Kraak, M.H.S., Stuijfzand, S.C., (2000).Linking ecological and ecotoxicological techniques to support river rehabilitation.Chemosphere41,289–295.

Adomako, D., Nyarko, B. J. B., Dampare, S. B., Serfor-Armah, Y., Osae, S., Fianko, J. R. and Akaho, E. H. K. (2008). Determination of toxic elements in waters and sediments from River Subin in the Ashanti Region of Ghana. Environ Monit Assess; 141: 165–175.

Agbozu, I.E. and K. Opuene, (2007). Survey of heavy metals in the catfish (*Syndontis clarias*) Int. J. Env. Sci. and Tech. 4: 93-97.

Agdag, O. N., Sponza, D. T., (2004). Anaerobic/aerobic treatment of municipal landfill leachate in sequential two-stage up-flow anaerobic sludge blanket reactor (UASB)/completely stirred tank reactor (CSTR) systems. Process Biochemistry 40 (2), 895-902.

Ahmad, A., Diwan, H., Abrol, Y.P., (2010). Global climate change, stress and plant productivity. In: A., P., K., S.S., Bohnert, H.J., Govindjee (Eds.), Abiotic Stress Adaptation in Plants: Physiological, Molecular and Genome Foundation. Printempser Science + Business Media B.V., Printempser, Netherlands, pp. 503–521.

Ahmed, k.(2008). "The Kano Physical Environmental", Available at: http://www.kanostate.net/physical.html.

Akoteyon, I. S. (2012). Evaluation of groundwater quality using contamination index in parts of Alimosho, Lagos-Nigeria. American Academy and Scholarly Research Journal, 4 (4), 35-41.

Al-Ahmadi, M.E., El-Fiky, A.A., (2009). Hydrogeochemical evaluation of shallow alluvial aquifer of Wadi Marwani, western Saudi Arabia, Journal of King Saud University (Science) 21, 179-190.

Albrechtsen, H.-J., Heron, G. & Christensen, T. H. 1995, 'Limiting factors for microbial Fe(III) -reduction in a landfill leachate polluted aquifer (Vejen, Denmark)', FEMS Microbiology Ecology, vol. 16, no. 3, pp. 233-247.

Aldenberg T. and Jaworska J.S. (2000). Uncertainty of the hazardous concentration and fraction affected for normal species sensitivity distributions. Ecotoxicol Environ Saf, 46, 1, 1-18.

Aleya, L. & Devaux, J., (1989). Relations entre la transparence de l'eau et la chlorophylle a de trois fractions de taille phytoplanctoniques en milieu lacustre eutrophe. Ann. Sci. Nat. Zool., 9, 257-262.

Aleya, L., (1992). The seasonal succession of phytoplankton in an eutrophic lake through the coupling of biochemical composition of particulates, metabolic parameters and environmental conditions. Archiv für Hydrobiologie 124, 69-88.

Aleya, L., Desmolles, F., Bonnet, M.P., Devaux, J., (1994). The deterministic factors of the Microcystis aeruginosa blooms over a biyearly survey in the hypereutrophic reservoir of Villerest (Roanne, France). Archiv für Hydrobiologie, 4: 489-515.

Aleya, L., Khattabi, H., Belle, E., Grisey, H., Mudry, J., Mania, J., (2006). Coupling of abiotic and biotic parameters to evaluate performance of combining natural lagooning and use of two sand filters in the treatment of landfill leachates, Environmental Technology 28, 225-234.

Aleya, L., Khattabi, H., Belle, E., Grisey, H., Mudry, J., Mania, J., (2007). Coupling of abiotic and biotic parameters to evaluate performance of combining natural lagooning and use of two sand filters in the treatment of landfill leachates. Environmental Technology 28, 225–234.

Alker SC, Sarsby RW, Howell R (1995). Composition of leachate from waste disposal sites. In: Proceedings waste disposal by landfill—Green 1993, Balkemia, pp 215–221.

Allen, S.E., (1989). Analysis of Ecological Materials. second ed. Blackwell Scientific Publication, Oxford.

Al-Sabahi, E. S.; Abdul Rahim, W. Y.; Zuhairi, F. A., and Alshaebi, F. (2009). The characteristics of leachate and groundwater pollution at municipal solid waste landfill of Ibb City, Yemen. American Journal of Environmental Sciences, 5(3), 256-266.

Al-Sayegh Petkov'sek, S., Mazej Grudnik, Z., Pokorny, B., (2012). Heavy metals and arsenic concentrations in ten fish species from the Salek lakes (Slovenia): assess-ment of potential human health risk due to fish consumption. Environ. Monit. Assess. 184, 2647–2662.

Al-Tarazi, E., Abu Rajab, J., Al-Naqa, A., El-Waheidi, M., (2008). Detecting leachate plumes and groundwater pollution at Ruseifa municipal landfill utilizing VLF-EM method, Journal of Applied Geophysics 65, 121-131.

Al-Wabel, M.I., Al Yehya, W.S., AL-Farraj, A.S., El-Maghraby, S.E., (2011). Characteristics of landfill leachates and bio-solids of municipal solid waste (MSW) in Riyadh City, Saudi Arabia. J. Saudi Soc. Agric. Sci. 10, 65–70. doi:10.1016/j.jssas.2011.03.009.

Andersson, K., Dahlqvis t, R., Turner, D., Stolpe, B., Larsson, T., Ingri, J. Andersson, P., (2006). Colloidal rare earth elements in a boreal river: Changing sources and distributions during the spring flood. Geochimica et Cosmochemica Acta. 70, 3261-3274.

Andres, S., F. Ribeyre, J.N. Tourencq and A. Boudou, (2000). Interspecific Comparison of Cadmium and Zinc Contamination in the Organs of Four Fish Species along a Polymetallic Pollution Gradient (Lot River, France). Sci. Total Environ. 248: 11-25. http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697 (99)00477-5.

Angelov, M.N., Sun, J., Byrd, G.T., Brown, R.H., Black, C.C., (1993). Novel characteristics of cassava, M&hot esculentu Crantz, a re- puted C-C4 intermediate photosynthesis species. Photosyn. Res. 38:61-72.

Anjum, N.A., Ahmad, I., Mohmood, I., Pacheco, M., Duarte, A.C., Pereira, E., Umar, S., Ahmad, A., Khan, N.A., Iqbal, M., Prasad, M.N.V., (2012). Modulation of glutathione and its related enzymes in plants'responses to toxic metals and metalloids – a review. Environ. Exp. Bot. 75, 307–324.

Annan, S.Y., Liu, P., Zhang, Y., (2009). Comparison of the Kaplan-Meier, Maxillum Likelihood, and ROS Estimators for Left-Censored Data Using Simulation Studies.

Anning, A.K., Korsah, P.E., Addo-Fordjour, P., (2013). Phytoremediation of wastewater with Limnocharis flava, Thalia geniculata and Typha latifolia in constructed wetlands. Int. J. Phytoremediat. 15, 452–464.

Anonymous, (1991). Empfehlungen fur die Nahrstoffzufuhr pp: 72-75 Germany: Deutsche Gesellschaft fur Ernahrung.

APHA, (1998). In: Clesceri, L.S., Greenberg, A.E., Eaton, A.D. (Eds.), Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. , twentieth ed. American PublicHealth Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, APHA, Washington, DC.

ARAMBOUROU Hélène, (2013). Stress toxique et variations de forme chez *Chironomus riparius* (Insecte, Diptère) thèse en vue de l'obtention du grade de : DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LORRAINE Spécialité : Écotoxicol, Biodiversité, Écosystèmes Délivrée par : Université de Lorraine (UFR Sciences Fondamentales et Appliquées).

Arrêté du 9 septembre 1997 modifié relatif aux installations de stockage de « déchets non dangereux », JO n° 229 du 2 octobre 1997.

Arrêté n° 2014202-0003 signé par Dominique BUR - Préfet du Nord Denis ROBIN, Préfet du Pas- de- Calais - le 21 Juillet 2014.

Asaolu, S.S., K.O. Ipinmoroti, C.E.C.E. Adeeyinwo and O. Olaofe, (1997). Seasonal variation in heavy metal distribution in sediment of Ondo state coastal region. Ghana J. Chem., 3: 11-14.

Aydinalp C, Marinova S. (2003). Distribution and Forms of Heavy Metals in Some Agricultural Soils. Polish Journal of Environmental Studies 12(5):629-633.

B

Baccini, P., Henseler, G., Figi, R., Belevi, H., (1987). Water and element balances of municipal solid waste landfills. Waste Manag. Res. 5, 483–499.

Bahaa-eldin EAR, Yusoff I, Samsudin AR, Yaacob WZW, Rafek AGM. (2010). Deterioration of groundwater quality in the vicinity of an active open-tipping site in West Malaysia. Hydrogeol J.; 18:997–1006.

Baker, N.R., (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. Annual Review of Plant Biology 59, 89–113..

Baptista Neto JA, Smith Bj and Mcallister JJ. (2000). Heavy metal concentrations in surface sediments in a nearshore environment, Jurujuba Sound, SE, Brazil.

Barak N.A.B. and Mason C.F. (1990). Mercury, cadmium and lead concentrations in five species of freshwater fish from eastern England. Sci. Total Environ. 92: 257–263.

Barcelo, J., Poschenrieder, Ch., (1990). Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. J. Plant Nutrition, 13, 1-37.

Barlaz M.A., Rooker A.P., Kjeldsen P., Gabr M.A. & Borden R.C. (2002). Critical evaluation of factors required to terminate the postclosure monitoring period at solid waste landfills. Environmental Science and Technology, 36(16), 3457-3464.

Bastos, J.A. (2010). Landfill leachate treatment: a new photobioreactor technology. Dissertation of Master's. University of Porto.

Baszynski, T., Wajda, L., Krol, M., Wolinska, D., Krupa, Z., Tukendorf, A., (1980). Photosynthetic activities of cadmium-treated plants. Physiol. Plant. 48, 365–370.

Baun, D. L., Christensen, T. H., (2004). Speciation of heavy metals in landfill leachate: a review. Waste Management& Research. 22-1, 3-23.

Bazzaz, F.A., Carlson, R.W., Rolfe, G.L., (1974). The effect of heavy metals on plants. Part I. Inhibition of gas exchange in sunflower by Pb, Cd, Ni, and Ti. Environ. Pollut., 7:241–246.

Becerril, J. M., Munoz-Rueda, A., Aparicio-Tejo, P., Gonzales-Murua, C., (1988). The effect of cadmium and lead on photosynthetic electron transport in clover and lucerne. Plant Physiol. Biochem., 26, 357–363.

Belle, É., (2008). Évolution de l'impact environnemental de lixiviats d'ordures ménagères sur les eaux superficielles et souterraines, approche hydrobiologique et hydrogéologique. Site d'étude : décharge d'Étueffont (Territoire de Belfort - France), Thèse de doctorat, Université de Franche-Comté, Besançon.

Belle, E., Genevois, V., Mudry, J., Aleya, L., (2008). Annual distribution of bacterial indicators generated by the domestic wastes from the landfill of Étueffont (France). Environmental Technology. 29-2, 207-216.

Ben Salem, Z., (2014). Étude de la bioaccumulation des éléments traces métalliques chez les macrophytes et les poissons dans la décharge d'Étueffont (Belfort, France): Intérêts de l'utilisation de l'approche moléculaire pour la détection de génotoxicité. Thèse de doctorat, Université de Franche-Comté, Besançon.

Ben Salem, Z., Capelli, N., Laffray, X., Grisey, E., Habib, A., Aleya, L., (2014). Seasonal variation of heavy metals in water, sediment and roachtissues in a landfill draining system pond (Etueffont, France). Ecol. Eng. 69, 25–37.

Ben Salem, Z., Laffray, X., Ashoor, A., Ayadi, H., Aleya, L., (2014). Metal accumulation and distribution in the organs of Reeds and Cattails in a constructed treatment wetland (Étueffont, France). Ecol. Eng. 64, 1–17.

Bertanza G. and Pedrazzani, R. (2005). Endocrine disrupting compounds (EDCs) in landfill leachate. Tenth international waste management and landfill symposium, Sardinia, Italy.

Bervoets, L., Meregalli, G., De Cooman, W., Goddeeris, B., Blust, R., (2004). Caged midge larvae (*Chironomus riparius*) for the assessment of metal bioaccumulation from sediments in situ. Environ. Toxicol. Chem. 23, 443–454.

Bienfait, H., (1988). Mechanisms in Fe-efficiency reactions of higher plants. J. Plant Nutr. 11, 605–629.biomass of a combined constructed wetland treating domestic wastewater. Water Air Soil Poll. 183, 253–264.

Bishnoi, N., Sheoran, I., R. Singh, R., (1993). Effect of cadmium and nickel on mobilisation of food reserves and activities of hydrolytic enzymes in germinating pigeonpea seeds. Biol. Plant., 35, 583.

Bjerg, P. L., Albrechtsen, H. J., Kjeldsen, P., Christensen, T. H., Cozzarelli, I. M. & Heinrich, D. H. a. K. K. T. (2003). 'The Groundwater Geochemistry of Waste Disposal Facilities', in (ed.), Treatise on Geochemistry, Pergamon, Oxford, pp. 579-612.

Björkman, O., Demmig, B., (1987). Photon yield of O2 evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. Planta 170:489–504.

Blundell T, (Chairman), (2003). Chemicals in products: safeguarding the environment and human health. Royal Commission on Environmental Pollution. 24th Report, London, UK; 291 pp.

Bodzek, M., Lobos-Moysa, E. & Zamorowska, M. (2006). Removal of organic compounds from municipal landfill leachate in a membrane bioreactor, Desalination, vol. 198, no. 1-3, pp. 16-23.

Bonanno, G., (2011). Trace element accumulation and distribution in the organs of Phragmites australis (common reed) and biomonitoring applications. Ecotoxicol. Environ. Saf. 74, 1057–1064.

Bonanno, G., Lo Giudice, R., (2010). Heavy metal bioaccumulation by the organs of Phragmites australis (common reed) and their potential use as contamination indicators. Ecol. Indic. 10, 639–645.

Bonneris, E., Perceval, O., Masson, S., Hare, L., Campbell, P., (2005). Sub-cellular partitioning of Cd, Cu and Zn in tissues of indigenous unionid bivalves living along a metal exposure gradient and links to metal-induced effects. Environ. Pollut. 135, 195–208. doi:10.1016/j.envpol.2004.11.007.

Borkert, C.M., Cox, F.R., Tucker, M.R., (1998). Zinc and copper toxicity in peanut, soybean, rice, and corn in soil mixtures. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 29, 2991–3005.

Bouarab L., (2000). Dynamique et rôle des algues phytoplanctoniques dans le traitement des eaux usées (station pilote de lagunage naturel d'Ouarzazate-Maroc), Thèse Doctorat d'état essciences, Faculté des sciences Semlalia-Marrakech, 207p.

Boulding R. (1996). EPA environmental assessment sourcebook. Indiana: Ann Arbor Press.

Bowman, J.J., Harlock, S., (1998). The spatial distribution of characterised fly-ash particles and trace metals in lake sediments and catchment mosses in Ireland. Water Air Soil Pollut. 106, 263–286.

Boyd, C.E. and Tucker, C.S. (1979). Emergency aeration of fish ponds. Trans. Am. Fish. Soc. 108: 299-306.

Bozkurt, S. ; Moreno, L. and Neretnieks, I. (2000). "Long-term processes in waste deposits," The Science of the Total Environment, vol. 250, pp. 101-121.

Bradl, H., (2005). Heavy Metals in the Environment: Origin, Interaction and Remediation, first ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam.

Braskerud, B.C. (2002). Factors affecting phosphorus retention in small constructed wetlands Ecol.Eng.19:41-61.

Buchanan, B.B., Gruissem, W., and Jones, R.L., (2000). Biochemistry and Molecular Biology of Plants. (Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists).

Bulc, T.G., (2006). Long term performance of a constructed wetland for landfill leachate treatment, Ecological Engineering 26, 365-374.

<u>C</u>

Caccia, V.G., F.J. Millero and A. Palanques, (2003). The distribution of trace metals in Florida Bay sediment. Mar. Pollut. Bull., 46(11): 1420-1433.

Cain D.J., Carter J.L., Fend S.V., Luoma S.N., Alpers C.N. and Taylor H.E. (2000). Metal exposure in a benthic macroinvertebrate, Hydropsyche ealifomiea, related to mine drainage in the Sacramento River. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 57(2): 380–390.

Calmano W., Förstner U. (1982). Chemical extraction of heavy metals in polluted river sediments in Cen- tral Europe – Sci. Tot. Environ 28: 77-90.

Calvo, F., Moreno, B., Zamorano, M. & Szanto, M. (2005). 'Environmental diagnosis methodology for municipal waste landfills', Waste Management, vol. 25, no. 8, pp. 768-779.

Canli, M. and G. Atli, (2003). The Relationships between Heavy Metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) Levels and the size of Six Mediterranean Fish Species. Environ. Pollut. 121: 129-136. <u>http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491</u> (02)00194-X. Carpenter, L.V. and Setter, L.R. (1940). Some notes on sanitary landfills. Am. J. Public. Health, 30, 385-393.

Carranza-Álvarez, C., Alonso-Castro, A.J., Alfaro-De La Torre, M.C., García-De La Cruz, R.F., (2008). Accumulation and distribution of heavy metals in Scirpus americanus and Typha latifolia from an artificial lagoon in San Luis Potosí, Mexico. Water Air Soil Pollut. 188, 297–309.

Carru A.-M., Teil M.J., Blanchard M., Chevreuil M. and Chesterikoff A. (1996). Evaluation of the roach (*Rutilus rutilus*) and the perch (Perea fluviatilis) for the biomonitoring of metal pollution. J. Environ. Sci. Health A31: 1149–1158.

Carville M. S. Last S. D. Olufsen J. S. and Robinson H. D. (2003). Characterisation of contaminant removal achieved by biological leachate treatment systems. Ninth international waste management and landfill symposium, Sardinia, Italy.

Castañeda, S.S., Sucgang, R.J., Almoneda, R.V., Mendoza, N.D.S., David, C.P.C., (2012). Environmental isotopes and major ions for tracing leachate contamination from a municipal landfill in Metro Manila, Philippines, Journal of Environmental Radioactivity 110, 30-37.

Cecen F, Gursoy G. (2000). Characterization of Landfill Leachates and Studies on Heavy Metal Removal. J Environ Monit 2(5):436-42.

Céline BERTHE (2006). Etude de la Matière Organique contenue dans des lixiviats issus de différentes filières de traitement des déchets ménagers et assimilés. PHD thèses, Faculté des Sciences et Techniques. Universite de Limoges.196 p.

Chen P.H. (1996). Assessment of leachates from sanitary landfills: impact of age, rainfall and treatment, Environ. Int. 22, 225–237.

Chofqi, A., Younsi, A., Lhadi E.K., Mania, J., Mudry, J., Veron, A. (2004). Environmental impact of an urban landfill on a coastal aquifer (El Jadida, Morocco), Journal of African Earth Sciences 39, 509-516.

Christensen J.B., Jensen D.L., Christensen T.H. (1996). Effect of dissolved organic carbon on the mobility of cadmium, nickel and zinc in leachate polluted groundwater, Water Res. 30, 3037–3049.

Christensen TH, Kjeldsen P, Bjerg PL, Jensen DL, Christensen JB, Baun A, Albrechtsen HJ, Heron G. (2001). Biogeochemistry of landfill leachate plumes. Appl. Geochem., 16: 659–718.

Christensen, J. B.; Jensen, D. L.; Gron, C. ; Filip, Z. and Christensen, T. H. (1998). Characterization of the dissolved organic carbon in landfill leachate-polluted groundwater, Water Res., 32, 125-135.

Christensen, T.H., Kjeldsen, P., Bjerg, P.L., Jensen, D.L., Christensen, J.B., Baun, A., Albrechtsen, H.-J., Heron, G., (2001). Biogeochemistry of landfill leachate plumes, Applied Geochemistry 16, 659-718.

Chu, L. M.; Cheung, K. C. and Wong, M. H. (1994). Variations in the chemical properties of landfill leachate. Environ. Manage. 18, 105-117.

Clark, R.B., (2001). Marine Pollution, fifth ed. University Press, Oxford.

Clark, T.P. and Piskin, R. (1977). Chemical quality and indicator parameters for monitoring landfill leachate in Illinois, Environmental Geology 1, 329-339.

Clément, B., Janssen, C., Le Du-Delepierre, A., (1997). Estimation of the hazard of landfills through toxicity testing of leachates. 2. Comparison of physico-chemical characteristics of landfill leachates with their toxicity determined with a battery of tests. Chemosphere 35, 2783-2796.

Conley, D.J. (2000). Biogeochemical nutrient cycles and nutrient management strategies. Hydrobiol., 410: 87-96.

Contoz, O. (2009). Etude de la bioaccumulation en ETMs au sein de différents compartiments biotiques de la décharge d'Étueffont (Belfort), mémoire Master 2 recherche, Université de Franche-Comté, Besançon.

Cooper, A. B. (1984). Activities of benthic nitrifiers in streams and their role in oxygen consumption. Microb. Ecol. 10:317–334.

Council Directive 1999/31/EC. "On the Landfill of Waste." Official Journal of the European Communities. Vol. L 182. 26 April 1999.

Cozzarelli I.M., Böhlke J.K., Masoner J., Breit G.N., Lorah M.M., Tuttle M.L.W., Jaeschke J.B. (2011). Biogeochemical Evolution of a Landfill Leachate Plume, Norman, Oklahoma, Ground Water, Vol. 49, No. 5, 663–687.

Craig, A., Hare, L., Charest, P.-M., Tessier, A. (1998). Effect of exposure regime on the internal distribution of cadmium in Chironomus staegeri larvae (Insecta, Diptera). Aquat. Toxicol. 41, 265–275.

Crommentuijn T, Doodeman CJAM, Doornekamp A, Van der Pol JJC, Bedaux JJM, Van Gestel CAM.(1994). Lethal body concentrations and accumulation patterns determine time-dependent toxicity of cadmium in soil arthropods. Environ Toxicol Chem.; 13:1781–9.

D

Dahlqvist, R., Andersson, K., Johan Ingri, J., Larsson, T., Stolpe, B., Turner, D. (2007). Temporal variations of colloidal carrier phases and associated trace elements in a boreal river. Geochimica et Cosmochemica Acta. 71, 5339-5354.

Dassenakis M., Scoullos M., and Gaitis A., (1997). Trace metals transport and behavior in the Mediterranean estuary of Archeloos River, Mar. Pollut. Bull., 34, 103 – 111.

Dassenakis, M., Andrianos, H., Depiazi, G., Konstantas, A., Karabela, M., Sakellari, A. & Scoullos, M. 2003, 'The use of various methods for the study of metal pollution in marine sediments, the case of Euvoikos Gulf, Greece', Applied Geochemistry, vol. 18, no. 6, pp. 781-794.

Deng, H., Ye, Z.H., Wong, M.H., (2004). Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by twelve wetland plant species thriving in metal contaminated sites in China. Environ. Pollut. 132, 29–40.

Deng, Y. & Englehardt, J. D. (2007), 'Electrochemical oxidation for landfill leachate treatment', Waste Management, vol. 27, no. 3, pp. 380-388.

Denton, G. R. W., Bearden, B. G., Concepcion, L. P., Siegrist, H. G., Vann, D. T. & Wood, H. R. (2001). Contaminant Assessment of Surface Sediments from Tanapag Lagoon, Saipan, Water and Environmental Research Institute of the Western Pacific, Technical Report No. 93, University of Guam, Mangilao, Guam.

Denutsui, D.; Akiti, TT.; Osae, S.; Tutu, AO.; Blankson-Arthur, S.; Ayivor, JE. Adu-Kwame, FN. and Egbi, C. (2012). Leachate characterization and assessment of unsaturated zone pollution near municipal solid waste landfill site at Oblogo Accra-Ghana. Res J Environ Earth Sci 4(1):134–141.

DeRosa, E.; Rubel, D.; Tudino, M.; Viale, A. and R.J. Lombardo, (1996). The leachate composition of an old waste dump connected to groundwater: Influence of the reclamation works. Environ. Monit. Assess. 40 (3): 239-252.

Disante, K.B., Fuentes, D., Cortina, J., (2010). Sensitivity to zinc of Mediterranean woody species important for restoration. Sci Tot Environ 408: 2216–2225.

DoE (Department of the Environment) (1978). Cooperative programme of research on the behaviour of hazardous wastes in landfill sites. Final report of the Policy review committee., (Chairman J.Sumner) HMSO, London.

Dorota P. (2014). Assessment of groundwater contamination around reclaimed municipal landfill – otwock area, Poland. Journal of Ecological Engineering Volume 15, No. 4, Oct. 2014, pages 69–81.

Ducrot, V.; Péry, A.R.; Mons, R. and Garric, J. (2004). Energy-based modeling as a basis for the analysis of reproductive data with the midge (*Chironomus riparius*). Environ. Toxicol. Chem. 23, 225–231.

Dunbabin, J., Bowmer, K., (1992). Potential use of constructed wetlands for treatment of industrial wastewaters containing metals. Sci. Total Environ. 111, 151–168.

Dupré, B.; Viers, J.; Dandurand, J. L.; Polve, M.; Bénézeth, P.; Vervier, P. Braun, J. J., (1999). Chemical weathering in the drainage basin of a tropical watershed (Nsimi-Zoetele

site, Cameroon): comparison between organic-poor and organic-rich waters. Chemical Geology. 160, 63-80.

E

Edem Christopher, A.; O. Vincent, I. Grace, E. Rebecca, E. Joseph, (2009). Distribution of heavy metals in bones, gills, livers and muscles of (Tilapia) *Oreochromis niloticus* from Henshaw Town Beach market in Calabar Nigeria, Pakistan Journal of Nutrition, 8, 1209-1211.

Edmonson, W.T., (1980). Secchi disk and chlorophyll. Limnol. Oceanogr., 25, 378-379.

EL Kharmouz, M. ; Sbaa, M. ; Chafi, A. ; Rodriguez, R. L. ; Vanclooster, M. et Saadi, S. (2005). Evolution spatio-temporelle de la composition physico-chimique des lixiviats d'une décharge située sous un climat semi-aride (cas de la décharge publique de la ville d'Oujda, Maroc Oriental), Tribune de l'eau, n°634/2, 33-47.

Elewa, A. A; Shehata, M. B.; Issa, Y. M. and Abdel-Satar, A. M. (1997). Accumulation of chemical elements in the recent sediments of River Nile at Greater Cairo from Helwan to El-Kanater El-Khyria. Egypt. J. Anal. Chem. 6: 84-96.

Elewa, A.A. and Goher, M.E.M. (1999). Environmental factors affecting the precipitation and dissolution of Fe, Mn, Zn, Cu, Pb and Cd in River Nile at Damietta branch. Bull. Fac. Sci., Zagazig Univ. 21(2) 114-136.

Elewa, A.A.; Issa, Y. M.; Rizk, M. S. and Hassouna, A. F. A. (1996). Seasonal and regional variations of Fe, Mn, Zn, Cu and Cd in water of the River Nile, Egypt. Menofiya, J. Agric. Res. 21 (3), 747-760.

Elhachemi, O. ; Elhalouani, H. ; Meziane, M. ; Torrens, A. ; Salgot, M. and Sbaa, M. (2012). Etude des performances épuratrices dans une station de traitement des eaux usées par lagunage en climat désertique (Oasis de Figuig-Maroc) : Aspect bactérien et organique, Rev. Microbiol. Ind. San et Environn., 6 (1): 84-97.

Eliassen, R. (1942). Decomposition of landfills. AmJ, Public Health, 32, 1029-1037.

Elloumi, J.; Guermazi, W.; Ayadi, H.; Bouaïn, A. and Aleya, L., (2008). Detection of water and sediments pollution of an arid Saltern (Sfax, Tunisia) by coupling the distribution of microorganisms with hydrocarbons. Water Air Soil Pollution 187, 157-171.

Elser, J.J.; Elser, M.M., and Carpenter, S.R., (1986). Size fractionation of algal chlorophyll, carbon fixation and phosphatase activity: relationship with species-specific size distributions and zooplankton community structure. J. Plankton Res., 8, 365-383.

Emberton, J.R. (1986). The biological and chemical characterisation of landfill. Proc. UK DEn/US OE Conf. Solihull, UK. OCT 28-31 p 150-163.Environ Pollut 109: 1–9.

Environmental protection Agency of South Australia. (2008). Draft guidelines for ground water investigation and monitoring of land fill. Retrieved from: http:// www.epa.sa.gov.au

EPA (2003). water.epa.gov/type/watersheds/trading/finalpolicy 2003.cfm

EPA. (2003). Drinking water quality standards. Waterford, Wisconsin 53185: Edstrom Industries.

EPA. (Environmental Protection Agency), (2002). Risk assessment: technical background information. RBG Table, Available fromhttp://www.epa.gov./reg3hwmd/risk

EPA/World Bank, (1996): Towards an Integrated Coastal Zone Management Strategy for Ghana. The World Bank, Washington D. C., USA/Environmental Protection Agency, Ghana.

Eshun F.B. (2011). Distribution of heavy metals in the fosu lagoon (cape coast). A Thesis submitted to the Department of Environmental Science, Kwame Nkrumah University of Science and Technology, in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science (environmental science) College of Science.108p

ETSU (1990). Fundamental Studies On Cellulose Degradation in Landfills. Contractor Report ETSU B 1228. Harwell Laboratory, Oxon, UK.

Ettler, V., Matura, M., Mihaljevic, M., Bezdicka, P. (2006). Metal speciation and attenuation in stream waters and sediments contaminated by landfill leachate. Environmental Geology. 49, 610-619.

F

Fan H, Shu HY, Yang HS, Chen WC. (2006). Characteristics of landfill leachates in central Taiwan. Sci. Total Environ. 361:25–37.

FAO/WHO. (1984). List of maximum levels recommended for contaminants by the Joint FAO/WHO. Codex Alimentarius Commission, 3:1-8.

Farquhar, (1989), Leachate: production and characterization, Canadian Journal of Civil Engineering 16, 317-325

Farquhar, G.D., von Caemmerer, S., Berry, J.A., (1980). A biochemical model of photosynthetic CO2 assimilation in leaves of C3 species. Planta 149: 78–90.

Fatta D.; Papadopoulos A. and Loizidou, M. (1999). A study on the landfill leachate and its impact on the groundwater quality of the greater area. Environ. Geochem. Health 21 (2): 175-190.

Fergusson, J. E. (1990). The Heavy Elements: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects, Pergamon Press, Oxford, England.

Ferhan Cecen and Gul Gursoy (2000). Characterization of landfill leachates and studies on heavy metal removal. Bogazici University, Institute of Environmental Sciences, 80815 Bebek, Istanbul, Turkey.

Ferrari, B.J.D.; VignaM, D.A.L. and Dominik, J. (2014). Bioaccumulation kinetics and effects of sediment-bound contaminants on chironomids in deep waters: new insights using a low-disturbance in situ system. Environ. Technol. 35, 456–469.

Ferrington, L. C., Jr. (2008). Global biodiversity of non-biting midges (Chironomidae: Diptera) in freshwater. Hydrobiologia (Special FADA Issue). 595(1): 447-455.

Fielding, E.R., Archer, D.B., Conway de Macario, E. and Macario, AJ.L. (1988). Isolation and characterisation of methanogenic bacteria from landfills. Appl. Environ. Microbiol, 54, 835-836.

Fletcher, I. J. and E. Ashbee, in Nitrogen Removal from Wastewaters, ed. Horan, Lowe, Stentiford, Technomic, Lancaster, PA, (1994), pp. 119-129.

Flyhammar, P. (1995). Leachate quality and environmental effects at active Swedish municipal landfill, in: R. Cossu, H. T. Christensen and R. Stegmann (eds) Regulations, EnvironmentalImpact and Aftercare. Proceedings Sardinia '95, Fifth International Landfill Symposium. Vol. III, Sardinia, Italy, pp. 549–557.

Frascari, D., Bronzini, F., Giordano, G., Tedioli, G., Nocentini, M., (2004). Long-term characterization, lagoon treatment and migration potential of landfill leachate: a case study in an active Italian landfill, Chemosphere 54, 335-343.

Freeze RA. and Cherry JA. (1979). Ground water. Prentice-Hall, Englewood Cliffs.

Froese, R., and D. Pauly, editors. (2010). FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (04/2010). Available: http://www.fishbase.us/summary/Rutilus-rutilus.html. Accessed July 20, 2010.

G

G. Nussey, "Bioaccumulation of Chromium, Manganese, Nickel and Lead in the Tissues of the Moggel, Labeo umbratus (Cyprinidae), from Witbank Dam, Mpumalanga," Water SA, Vol. 26, No. 2, 2000, pp. 269-284.

Geffard, A., Sartelet, H., Garric, J., Biagianti-Risbourg, S., Delahaut, L., Geffard, O., (2010). Subcellular compartmentalizaMon ofcadmium, nickel, and lead in Gammarus fossarum: Comparison of methods. Chemosphere 78, 822–829. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.11.051.

Gendebien, A., Pauwels, M., Constant, M., Ledrut-Damanet, M.-J., Nyns, E.- J., Willumsen, H.-C., Butson, J., Fabry, R. and Ferrero, G.-L. (1992) Landfill gas from environment to energy. CEC, Luxembourg. ISBN 92-826-3672-0.

Geophysical technique and groundwater monitoring to detect leachate contamination in the surrounding area of a landfill – Londrina (PR – Brazil), Journal of Environmental Management, http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.05.028, 1-7.

Gharib, A. G., Fatoorechain, S and Ahmadinaiar, A. (2003). Determination of essential major trace elements in daily diets by comparative methodologies and alterations. Trace Elements Med. 1: 43-53.

Gimbert, F., Geffard, A., Guédron, S., Dominik, J., Ferrari, B.J., in prep.(2015). Mercury tissue residue approach in Chironomus riparius: involvement of toxicokinetics and comparison of subcellular fractionation methods.

Giraudoux, P. (2012). Pgirmess: Data Analysis in Ecology, <u>http://perso.orange.fr/</u> giraudoux.

Gliwicz, Z.M., (1977). Food size selection and seasonal succession of filter-feeding zooplankton in an eutrophic lakes. Ekol. Pol., 25, 179-225.

Global Biodiversity Information Facility (GBIF). 2010. Available: http://data.gbif.org/species/13536482/. Accessed July 2010.

Godbold, D. L., Horst, W. J., Collins, J. C., Thurman, D. A., Marschner, H., (1984). Accumulation of zinc and organic acids in roots of zinc tolerant and non-tolerant ecotypes of Deschampsia caespitose . J. Plant Phys., 116, 59-69.

Goher, M. A. (2002): Chemical studies on the precipitation and dissolution of some chemical elements in Lake Qarun, Ph.D. Thesis, Fac., of Sci., Azhar Univ. Cairo, Egypt.

Goher, M.A. (1998): Factors affecting the precipitation and dissolution of some chemical elements in River Nile at Damietta branch, M. Sc. Thesis, Fac. Of Sci. Menofiya Univ. Egypt.

Goldberg, S., and R.A. Glaubig. 1988. Anion sorption on a calcareous, montmorillonitic soil—selenium. Soil Sci. Soc. Am. J. 52:954–958.

Gomez, M.L. and Martínez, D.E., 2010, Municipal waste management and groundwater contamination processes in Córdoba Province, Argentina, Revista Ambiente & Água, an interdisciplinary Journal of Applied Science 5 (3), 28-46

Goulet, R.R., Pick, F.R., (2001). Changes in dissolved and total Fe and Mn in a young constructed wetland: implications for retention performance. Ecol. Eng. 17, 373–384.

Green-Pedersen H, Jensen BT, Pind N (1997) Nickel adsorption on MnO2, Fe(OH)3, montmorillonite, humic acid and calcite: a comparative study. Environ Technol 18:807–815.

Grisey E. 2013. Impact de l'évolution des déchets d'une ISDND sur l'environnement. (Thèse de doctorat). Université de Franche-Comté.

Grisey, E., Laffray, X., Contoz, O., Cavalli, E., Mudry, J., Aleya, L., 2012. The bioaccumulation performance of reeds and cattails in a constructed treatment wetland for removal of trace metals in landfill leachate treatment (Etueffont, France). Water, Air and Soil Pollution 223, 1723–1741.

Grosbois, C., M. Meybeck, A. Horowitz and A. Ficht, (2006). The spatial and temporal trends of Cd, Cu, Hg, Pb and Zn in Seine River floodplain deposits (1994-2000). Sci. Total Environ., 356: 22-37.

Guigue, J., 2010, Dynamique de transfert et de sédimentation d'éléments-traces métalliques dans un dispositif de traitement des lixiviats d'ordures ménagères par lagunage naturel, mémoire Master 2 recherche, Université de Bourgogne, Dijon.

Guigue, J., Mathieu, O., Lévêque, J., Denimal, S., Steinmann, M., Milloux, M.-J., Grisey, H., 2013. Dynamics of copper and zinc sedimentation in a lagooning system receiving landfill leachate. Waste Manag. 33, 2287–2295. doi:10.1016/j.wasman.2013.06.004.

Gupta MK, Singh AK, Srivastava RK. (2009). Kinetic Sorption Studies of Heavy Metal Contamination on Indian Expansive Soil. E-Journal of Chemistry. [internet][cited 2010 May 14]; 6(4), 1125-1132.

Gurierri J.T. (1998). Distribution of metals in water and sediment and effect on aquatic biota in the upper Stillwater River basin, Montana. J. Geochem. Explor. 64: 83–100.

H

Haarstad K. Eggen T. Borch H. and Maehlum T. (2005) New polluants in norwegian leachates. Tenth international waste management and landfill symposium, Sardinia, Italy.

Haeusler, L., Moro-Goubely, A.-G., Berthoin, G., 2014. Déchets, les chiffres clés édiMon 2014. ADEME.

Haka[°] nson L. 1984. Metals in fish and sediments from the River Kolba[¬] cksa[°] n water system. Sweden. Arch. Hydrobiol. 101: 373–400.

Harmsen.J, (1983), "Identification of organic compounds in leachate from a waste tip", Journal of Water Research, 17(6), 699-705.

Harris, G.P., (1978). Photosynthesis, productivity and growth: the physiological ecology of phytoplankton. Arch. Hydrobiol. Bech. Ergeb. Limnol., 10, 1-171.

Helsel, D., Lee, L., (2006). Analysis of environmental data with nondetects, in: Continuing Education Workshop at the Joint Statistical Meetings. American Statistical Association, Seattle, Washington.

Helsel, D.R., (2006). FabricaMng data: How subsMtuMng values for nondetects can ruin results, and what can be done about it. Chemosphere 65, 2434–2439. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.04.051.

Hensen V (1887) Über die Bestimmung des Planktons oder des im Meer treibenden Materiales an Pflanzen und Tieren. Ber Komm Wiss Unters Dt Meere 5:1-109.

Hernández, A.J., Bartolomé, C., Pérez-Leblic, M.I., Rodríguez, J., Álvarez, J., Pastor, J., (2012). Ecotoxicological diagnosis of a sealed municipal landfill. J. Environ. Manage. 95, S50–S54. doi:10.1016/j.jenvman.2010.10.052.

Herreweghe, S.V., Swennen, R., Cappuyns, V., & Vandecasteele, C. (2002). Chemical associations of heavy metals and metalloids in contaminated soils near former ore treatment plants: A differentiated approach with emphasis on pHstat-leaching. Journal of Geochemical Exploration, 76, 113–138.

Khattabi, H. and Aleya L. (2007). The Dynamics of Macroinvertebrate Assemblages in Response to Environmental Change in Four Basins of the Etueffont Landfill Leachate (Belfort, France). Water. Air. Soil Pollut. 185, 63–77.

Hijosa-Valsero, M., Sidrach-Cardona, R., Martín-Villacorta, J., Bécares, E., (2010), Optimization of performance assessment and design characteristics in constructed wetlands for the removal of organic matter, Chemosphere 81, 651-657.

Holden, M., (1965). Chlorophylls. Pp. 461–488 *in* Goodrain, T.W. (ed.). Chemistry and biochemistry of plant pigments. Acad. Press.

Hopkins, W.G., (1999). Introduction to Plant Physiology. 2nd ed. New York, NY: John Wiley and Sons, Inc. p. 189-214.

Hubé, D., Gourcy, L., Gourry, J.-C., Guyonnet, D., 2011, Investigations of natural attenuation in groundwater near a landfill and implications for landfill post-closure, Waste Management and Research 29 (1), 77-88

Hui, T.S. (2005). "Leachate Treatment by Floating Plants in Constructed Wetland". Master's Thesis, Universiti.

Hussein, Y., Singh, A.K., Rai, L.C., (1991). Cadmium toxicity to photosynthesis and associated electron transport system of Nostoc linckia . Bull. Environ. Contam. Toxicol. 46, 146-150.

Ī

Ikem, A. and N.O. Egiebor, (2005). Assessment of Trace Elements in Canned Fishes (Mackerel, Tuna, Salmon, Sardines and Herrings) Marketed in Georgia and Alabama (United State of America). J. Food. Comp. Anal., 18: 771-787.

Ishahu, J.M., Nur, A., Bulus, J.A., 2012, Mapping of groundwater facies using anion geochemistry in Angware area, Jos Northcentral Nigeria, Research Journal of Chemical Sciences 2 (6), 21-29.

ISWA (International Solid Wastes Association) (1992) 7000 Terms in Solid Waste Management (Skitt, J. ed.). ISWA, Copenhagen.

Jackson, R. E. (1980), Aquifer contamination and protection, Project 8.3 of the International Hydrological Programme, UNESCO.

Jaffa, M., Ashraf, M. and Rasoal, (1998). Heavy metals contents in some selected local Fresh water fish and relevant water. Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research 31: 189-193.

Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C., Wright S.W. (1997) Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods. Monographs on oceanographic methodology, UNESCO publishing. pp.661.

Jensen, D. L., Ledin, A., Christensen, T. H., (1999). Speciation of heavy metal in landfillleachate polluted groundwater. Water Research. 33-11, 2642-2650.

Jeon, B.H., B.A. Dempsey, W.D. Burgos and R.A. Royer, (2003). Sorption kinetics of Fe(II), Zn(II), Co(II), Ni(II), Cd(II) and Fe(II)/Me(II) onto hematite. Water Res., 37: 4135-4142.

Jeong-Hoon M, Hae-Jin W, Myung-Won C, KI-Back H, Channg-Won K. 2001. Simultaneous Organic and Nitrogen Removal from Municipal Landfill Leachate using an Anaerobic-Aerobic System. Water Research 35(10):2403–2410.

Jeppesen, E., Sortkjær, O., Sondergaard, M., Erlandsen, M., 1992. Impact of trophic cascade on heterotrophic bacterioplankton production in two shallow fish-manipulated lakes. Arch. Hydrobiol., Beih. Ergeb. Limnol. 37, 219–231.

Jezierska B. and Witeska M. (2001). Metal Toxicity to Fish. Wyd. Akademii Podlaskiej (Monografie, 42), Siedlce.

Johansen OJ, Carlson DA (1976) Characterization of sanitary landfills leachates. Water Res 10:1129.

Johnson, C.A., Kaeppeli, M., Brandenberger, S., Ulrich, A., Baumann, W., (1999). Hydrological and geochemical factors affecting leachate composition in municipal solid waste incinerator bottom ash Part II. The geochemistry of leachate from Landfill Lostorf, Switzerland. Journal of Contaminant Hydrology 40, 239–259.

Joseph Clement Akan1, Salwa Mohmoud, Bashir Shettima Yikala, Victor Obioma Ogugbuaja, (2012). Bioaccumulation of Some Heavy Metals in Fish Samples from River Benue in Vinikilang, Adamawa State, Nigeria. American Journal of Analytical Chemistry, 2012, 3, 727-736.

Julien Guigue, Olivier Mathieu, Jean Lévêque, Sophie Denimal, Marc Steinmann, Marie-Jeanne Milloux, Hervé Grisey (2013). Dynamics of copper and zinc sedimentation in a lagooning system receiving landfill leachate. Waste Management 33 (2013) 2287–2295. Kabata-Pendias A., Pendias H. (1992). Trace elements in soils and plants. CRC Press, London.

Kadlec, R.H, Zmarthie, L.A., (2010), Wetland treatment of leachate from a closed landfill, Ecological Engineering 36, 946-957

Kadlec, R.H., Knight, R.L., (1996). Treatment Wetlands. CRC Press, Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, USA.

Kahle, H., (1993). Response of roots of trees to heavy metals. Environmental and Experimental Botany 39:99–119.

Kalavrouziotis, I.K., Carter, J., Varnavas, S.P., Mehra, A., Drakatos, P.A., (2007). Towards an understanding of the effect of road pollution on adjacent food crops: Zea mays as an example. Inter. J. Environ. Pollut. 30:576-592.

Kalfakakour, V., Akrida-Demertzi, K., (2000). Transfer Factors of Heavy Metals in Aquatic Organisms of Different Trophic Levels, vol. 1. HTML Publications, University of Ioannina, Greece, pp. 768–786.

KANG K.H., SHIN H.S. & PARK H. (2002). Characterization of humic substances present in landfill leachates with different ages and implications. Wat. Res., 36(16), 4023-4032.

Kasim, W.A., (2007). Physiological consequences of structural and ultra-structural changes induced by Zn stress in Phaseolus vulgaris L. Growth and photosynthetic apparatus. Int J Bot 3:15–22.

Keith P., Persat H., Feunteun E., & J. Allardi (coords), 2011. – Les poissons d'eau douce de France. Biotope, Mèze ; Museum national d'Histoire naturelle, Paris (collection Inventaires et biodiversité), 552 p.

Kennicutt , M.C., Wade, T.L. and B.J. Presley, (1992). Texas A&M University. Assessment of Sediment Contamination in Casco Bay. Casco Bay Estuary Project. 113 pp.

Kerbachi R, Belkacemi M. (1994). Caractérisation et évolution des lixiviats de la décharge de Oued-Smar à Alger. T.S.M.-L'eau 11:615–618.

Keren, R., and R.G. Gast. 1981. Effects of wetting and drying, and exchangeable cations, on boron adsorption and realease by montmorillinite. Soil Sci. Soc. Am. J. 45:478-482.

Keren, R., and U. Mezuman. (1981). Boron adsorption by soils using a phenomenological adsorption equation. Soil Sci. Soc. Am. J. 45:722-726.

Ketchum, B.H. (1962) Regeneration of nutrients by zooplankton. Rapp. P-V. Reun Cons, Cons. Int. Explor. Mar., 153: 142-147.

Khattabi, H. (2002). Intérêts de l'étude des paramètres hydrogéologiques et hydrobiologiques pour la compréhension du fonctionnement de la station de traitement des lixiviats de la

décharge d'ordures ménagères d'Étueffont (Belfort, France), Thèse de doctorat, Université de Franche-Comté, Besançon

Khattabi, H., Aleya, L., Mania, J., (2006). Spatio-temporal distribution and characterisation of phytoplankton populations coupled with abiotic and biotic changes in landfill leachate treatment basins (Etueffont, Belfort, France). Water Air Soil Poll. 174, 107–125.

Khattabi, H., Aleya, L., Mania, J., (2002). Lagunage naturel de lixiviat de décharge - Natural lagooning of landfill leachate. Revue des Sciences de l'Eau 15, 411–419.

Khattabi, H., Belle, E., Servais, P., Aleya, L., (2007). Temporal and spatial fluctuations in bacterial abundances in 4 basins of a landfill leachate treatment (Etueffont, France). C. R. Biol. 330, 429–438.

Kim, K., Rajmohan, N., Kim, H.-J., Kim, S.-H., Hwag, G.-S., Yun, S.-T., Gu, B., Cho, M.J., Lee, S.- H., (2005), Evaluation of geochemical processes affecting groundwater chemistry based on mass balance approach: A case study in Namwon, Korea, Geochemical Journal 39, 357-369.

Kjeldsen, P., Barlaz, M. A., Rooker, A. P., Baun, A., Ledin, A. & Christensen (2002). 'Present and Long-Term Composition of MSW Landfill Leachate: A Review', Critical Reviews in Environmental Science and Technology, vol. 32, no. 4, pp. 297-336.

Klink, A., Macioł, A., Wisłocka, M., Krawczyk, J., (2013). Metal accumulation and distribution in the organs of Typha latifolia L. (cattail) and their potential use in bioindication. Limnologica (Ecol. Manag. Inland Waters) 43, 164–168.

Klink, R.E. and Ham, R.K. (1982) Effects of moisture movement on methane production in solid waste landfill samples. Resources and Conservation, 8, 29-41.

Knox, K. (1995) A review of the Brogborough test-cell project. In Landfill gas microbiology workshop prospectus, St. John's Swallow Hotel, Solihull, UK (organised by ETSU, Harwell Laboratory, Oxon, UK.).

Komjarova, I., Blust, R., (2008). Muli-metal interactions between Cd, Cu, Ni, Pb and Zn in water flea Daphnia magna, a stable isotope experiment. Aquat. Toxicol. 90, 138–144. doi:10.1016/j.aquatox.2008.08.007.

Komjarova, I., Blust, R., 2009. Effect of Na, Ca and pH on simultaneous uptake of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn in the water flea Daphnia magna measured using stable isotopes. Aquat. Toxicol. 94, 81–86. doi:10.1016/j.aquatox.2009.05.018.

Kooijman SALM, Baas J, Bontje D, Broerse M, Van Gestel CAM, Jager T. (2009) Ecotoxicological applicaMons of Dynamic Energy Budget theory. In: Devillers J (ed) Ecotoxicology Modeling. Springer, Berlin, pp 237-259

Kranzberg G. and Stokes P. M. (1989) Metal regulation, tolerance and body burdens in the larvae of the genus Chironomas. Can J. Fish. Aquat. Sci. 46, 389-398.

Kostova, I. (2006) Leachate from sanitary landfills – origin, characteristics, treatment, University of Architecture, Borovetz.

Kranzberg G. and Stokes P. M. (1989) Metal regulaMon, tolerance and body burdens in the larvae of the genus Chironomas. Can J. Fish. Aquat. Sci. 46, 389-398.

Krumgalz, B. S., Fainshtein, G. & Cohen, A. (1992), 'Grain size effect on anthropogenic trace metals and organic matter distribution in marine sediments', The Science of the Total Environment, Elsevier Science Publishers, vol. 116, no. pp. 15 - 30.

Krupa, Z., Quist, G., Huner, N.P.A., (1993). The effects of cadmium on photosynthesis of Phaseolus vulgaris - a fluorescence analysis. Physiol Plant, 88, 626-630.

Krupa, Z., Siedlecka, A., Maksymiec, W., Baszynski, T., (1993a). In vivo response of photosynthetic apparatus of Phaseolus vulgaris L. to nickel toxicity. J. Plant Phys., 142, 664-668.

Kucuksezgin, F., Kontas, A., Altay, O., Uluturhan, E., Darılmaz, E., (2006). Assessment of marine pollution in Izmir Bay: nutrient, heavy metal and total hydrocarbon concentrations. Environ. Int. 32, 41-51, http://dx.doi.org/10.1016/ j.envint.2005.04.007.

Kulikowska, D., Klimiuk, E., (2008). The effect of landfill age on municipal leachate composiMon. Bioresour. Technol. 99, 5981–5985. doi:10.1016/j.biortech.2007.10.015.

Kurniawan, T. A., Lo, W.-h. & Chan, G. Y. S. 2006, 'Physico-chemical treatments for removal of recalcitrant contaminants from landfill leachate', Journal of Hazardous Materials, vol. 129, no. 1-3, pp. 80-100.

L

Lake, B. (2000). Understanding soil pH . Retrieved from : http://www.dpi.nsw.gov.au/__data/assets/pdf_file/0003/167187/soil-ph.pdf landfills using luminescent bacteria. Waste Manage. 26, 1148-1155.

Larsen, V., Schierup, H., (1981). Macrophyte cycling of zinc, copper, lead and cadmium in the littoral-zone of a polluted and a non-polluted lake. 2. Seasonal-changes. Aquat. Bot. 11, 211–230.

Laskowski, R., Bednarska, A.J., Spurgeon, D., Svendsen, C., van Gestel, C.A.M., (2010). Three-phase metal kinetics in terrestrial invertebrates exposed to high metal concentrations. Sci. Total Environ. 408, 3794–3802. doi:10.1016/j.scitotenv.2009.11.017.

Latif, A.F.A., Elewa, A. A., Hassan, M. M. and El-Dardir, M. (1989): "Relation between sediment, calcium carbonate, organic matter & productivity in Aswan High Dam Reservior" Bull. Ins. Oceanogr. And Fish., ARE, 15(2): 191-199.

Lebaron, P., Parthuisot, N., Catala, P. (1998). Comparison of blue nucleic acid dyes for flow cytometric enumeration of bacteria in aquatic systems. Appl Environ Microbiol 64, 1725-1730.

Lee, G.F. and A. Jones-Lee, (1993). Groundwater pollution by municipal landfills. Leachate composition, detection and water quality significance. Proceeding of the 4th International Landfill Symposium, Sardinia, Italy, pp: 1093-1103.

Lee, J.W., Yang, T.H., Shim, W.G., Kwon, T.O., Moon, I.S. (2007). Equilibria and dynamics of liquid-phase trinitrotoluene adsorption on granular activated carbon: Effect of temperature and pH, Journal of hazardous materials, 141(1) 185-192.

Lee, J.-Y., Cheon, J.-Y., Kwon, H.-P., Yoon, H.-S., Lee, S.-S., Kim, J.-H., Park, J.-K., Kim, C.-G., (2006), Attenuation of landfill leachate at two uncontrolled landfills, Environmental Geology 51, 581- 593.

Lehto, L. (1995). Boron retention in limed forest mor. For. Ecol. Manage. 78:11-20.

Lerman, A. (1978): Lake- chemistry, geology, physics, Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin, 35b.

Lesage, E., Rousseau, D.P.L., Meers, E., Tack, F.M.G., De Pauw, N., (2007). Accumulation of metals in a horizontal subsurface flow constructed wetland treating domestic wastewater in Flanders, Belgium. Sci. Total Environ. 380, 102–115.

Li P, Qian H, Howard KW, Wu J, Lyu X ;Environ Monit Assess. 2014 Mar;186(3):1385-98.Anthropogenic pollution and variability of manganese in alluvial sediments of the Yellow River, Ningxia, northwest China.

Li, X. D. and Thornton, I. (2001). Chemical partitioning of trace and major elements in soils contamination by mining and smelting activities. Applied Geochemistry, 16:1693-1706.

Lichtenthaler, H.K., (1987). Chlorophylls and carote- noids: Pigments of photosynthetic biomembra- nes. *Methods Enzymol.* 148:350-382.

Lin Z, Harsbo K, Ahlgren M and Qvafort U. (1998). The source and fate of Pb in contaminated soil at the urban area of Falun in Central Sweden. Sci Total Environ 209: 47–58.

Lo IMC (1996) Characteristics and treatment of leachates from domestic landfills. Environ Int 22(4):433–442

Longe EO, Malomo S, Olorunniwo MA (1987). Hydrogeology of Lagos metropolis. J. Afr. Earth Sci., 6(3):163-174.

Longe, E. O., & Enekwechi, L. O. (2007). Investigation on potential groundwater impacts and influence of local hydrogeology on natural attenuation of leachate at a municipal landfill. International Journal of Environmental Science & Technology, 4 (1), 133-140.

Loomb, C. A. M. (2001), Muddy Sedimentation in a Sheltered Estuarine Marine, Westpark Marina, Auckland, New Zealand, Thesis, The University of Waikato.

Looser, M.-O., Parriaux, A., Bensimon, M., 1999, Landfill underground pollution detection and characterization using inorganic traces, Water Research 33 (17), 3609-3616 Moletta, R., 2008, La méthanisation, Eds Tec & Doc Lavoisier.

Lopes, D.D., Silva, S.M.C.P., Fernandes, F., Teixeira, R.S., Celligoi, A., Dall'Antônia, L.H., (2012). Geophysical technique and groundwater monitoring to detect leachate contamination in the surrounding area of a landfill e Londrina (PR e Brazil).

Lorenzen J, Larsen LH, Kjaer T, Revsbech NP (1998) Biosensor determination of the microscale distribution of nitrate, nitrate assimilation, nitrification, and denitrification in a diatom-inhabited freshwater sediment. Appl Environ Microbiol 64:3264–3269.

Lorenzen, C.J., (1980). Use of chlorophyll-Secchi disk relationshipsand pheopigment: spectrophotometric equations. Limnol. Oceanogr., 25, 371-372.

Ludvigsen, L., Albrechtsen, H. J., Heron, G., Bjerg, P. L. & Christensen, T. H. (1998), 'Anaerobic microbial redox processes in a landfill leachate contaminated aquifer (Grindsted, Denmark)', Journal of Contaminant Hydrology, vol. 33, no. 3-4, pp. 273-291.

Luoma, S. N. 2000, 'Processes Affecting Metal Concentrations in Estuarine and Coastal Marine Sediments', in R. W. Furness & P. S. Rainbow (ed.), Heavy Metals in the Marine Environment, CRC Press, Inc, Florida, United States of America, pp. 51-66.

Lyven, B., Hasselöv, M., Turner, T. R., Haraldsson, C., Andersson, K., 2003. Competition between iron- and carbon-based colloidal carriers for trace metals in a freshwater assessed using flow field-flow fractionation coupled to ICPMS. Geochimica et Cosmochemica Acta. 67-20, 3791-3802.

M

MacDonald, D.D., Ingersoll, C.G., Berger, T.A., 2000. Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 39, 20–31.

Machado, W. MOSCATELLI, M. RESENDE, LG. et LACERDA, LD. (2001). Mercury, zinc and cooper accumulation in mangrove sediments surrounding a large landfill in southeast Brazil, Environ Pollut 120: 455–461.

Maciel, F.J., and J.F.T. Jucá. "Landfill Gas Emissions from a Brazilian MSW Landfill."GovernodoEstadoSaoPaulo.(2003).

http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/mudancasclimaticas/biogas/file/docs/artigo s_dissertacoes/maciel_juca2003.

Maddison, M., Soosaar, K., Lohmus, K., Mander, U., (2005). Cattail population in wastewater treatment wetlands in Estonia: biomass production, retention of nutrients, and heavy metals in phytomass. J. Environ. Sci. Health Part AToxic/ Hazard. Subst. Environ. Eng. 40, 1157–1166.

Maddison, M., Soosaar, K., Mauring, T., Mander, Ü., (2009). The biomass and nutrient and heavy metal content of cattails and reeds in wastewater treatment wetlands for the production of construction material in Estonia. Desalination 246, 120–128.

Madkour, H.A., A. El-Taher, A.N. El-Hagag Ahmed, A.W. Mohamed and T.M. El-Erian, 2012. Contamination of coastal sediments in El-Hamrawein Harbour, Red Sea, Egypt. J. Environ. Sci. Technol., 5: 210-221.

MAFF, 1995. Monitoring and Surveillance of Non-Radioactive Contaminants in the Aquatic Environment and Activities Regulating the Disposal of Waste at Sea, 1993. Aquatic Environment Monitoring Report No. 44. Directorate of Fisherise Research, Lowestoft.

Magda M. Abd El-Salam and Gaber I. Abu-Zuid ,(2015) Impact of landfill leachate on the groundwater quality: Journal of Advanced Research (2015) 6, 579–586

Mangabeira, P., Mushrifah, I., Escaig, F., Laffray, D., Franca, M.G.C., Galle, P., (1999). Use of SIMS microscopy and electron probe X-ray microanalysis to study the subcellular localization of aluminium in Vicia faba roots cells. Cell. Mol. Biol. 45,

Mangimbulude, J.C., van Breukelen, B.M., Krave, A.S., van Straalen, N.M., Röling, W.F.M., (2009). Seasonal dynamics in leachate hydrochemistry and natural attenuation in surface runoff water from a tropical landfill. Waste Management 29, 829–838.

Marchand, C., E. Lalliet Verges, F. Baltzer, P. Alberic, D. Cossa and P. Baillif, (2006). Heavy metals distribution in mangrove sediments along the mobile coastline of French Guiana. Mar. Chem., 98: 1-17.

Marie, D., Simon, N., Guillou, L., Partensky, F., Vaulot, D. (2000). Flow cytometry analysis of marine picoplankton. In: Diamond RA, DeMaggio S (eds) Living color: protocols in flow cytometry and cell sorting. Springer, Berlin, pp 421-454.

Markert, B., (1992). Presence and significance of naturally occurring chemical elements of the periodic system in the plant organism and consequences for future investigations on inorganic environmental chemistry in ecosystems. Vegetatio 103, 1–30.

Martinez E.A., Moore B.C., Schaumłoffel J. and Dasgupta N. (2002). The potential association between mental deformities and trace elements in Chironomidae (Diptera) taken from a heavy metal contaminated river. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 42(3): 286–291.

Martinez-Tabche, L., Ramirez, M.B., German-Faz, C. & Diaz-Pardo, E., (1998). Acetylcholinesterase activity of the freshwater cladoceran, *Moina macropora*, used as an in vitro screening tool for water quality. Aquat. Ecosys. Health man. 1, 317-322.

Massman, J.W., Moore, J.W. and Sykes, R.M. (1981) Development of computer simulation for landfill methane recovery, Technical Report ANUCNSV-26. Argonne Nat. Lab., US Department of Energy.

Matejczyk, M., Płaza, G.A., Nałęcz-Jawecki, G., Ulfig, K., Markowska-Szczupak, A., (2011). Estimation of the environmental risk posed by landfills using chemical, microbiological and ecotoxicological testing of leachates. Chemosphere 82, 1017–1023. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.10.066

Matejka G, Rinke M, Mejbri R, Bril H.(1994). Pollution engendrée par un lixiviat de décharge d'ordures ménagères : bilan hydrique et caractérisation. Environ. Technol. 15:313–322.

Maxwell, K., Johnson, G.N., (2000). Chlorophyll fluorescence-a practical guide, J Exp Bot, 51, 659–668.

Mays, P.A., Edwards, G.S., (2001). Comparison of heavy metal accumulation in a natural wetland and constructed wetlands receiving acid mine drainage. Ecol. Eng. 16, 487–500.

McCreadie H, Smith R. 1993. Groundwater quality evaluations of mines. The Technical and Research Committee on Reclamation. Proceedings of the 17th Annual British Columbia Mine Reclamation Symposium; Port Hardy, BC.

McFarlane, D.S., Cherry, J.A., Gillham, R.W., Sudicky, E.A., (1983), Migration of contaminants in groundwater at a landfill: a case study, Journal of Hydrology 63, 1-29

McPhail, M., A.L. Page, and F.T. Bingham. 1972. Adsorption interactons of monosilicic and boric acid on hydrous oxides of iron and aluminum. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 36:510-514.

Memon, A.R., Aktoprakligil, D., Özdemir, A., Vertii, A., (2001). Heavy metal accumulation and detoxification mechanisms in plants.

Memon, A.R., Chino, M., Hidaka, H., Hara, K.A., Yatazawa, M., (1981). Manganese toxicity in field grown tea plants and microdistribution of manganese in the leaf tissues as revealed by electron probe X-ray micrography. Soil Sci. Plant Nutr. 27.

Majone, M., Papini, M.P., & Rolle, E. (1996): Heavy metal speciation in landfill leachate by exchange on a chelex-100 resin . Environmental Technology, 17, 587-595.

Miao, S., DeLaune, R. D., & Jugsujinda, A. (2006). Influence of sediment redox conditions on release/solubility of metals and nutrients in a Louisiana Mississippi River deltaic plain freshwater lake. The Science of the Total Environment, 371, 334–343. doi:10.1016/j.scitotenv.2006.07.027.
Mikac, N., Cosovic, B., Ahel, M., Andreis, S., Tonzic, Z., (1998). Assessment of groundwater contamination in the vicinity of a municipal solid waste landfill (Zagreb, Croatia). Water Sci. Technol. 37, 37–44.

Miller C. V., Foster G. D. and Majedi B. F., (2003). Baseflow and stormflow metal fluxes from two small agricultural catchments in the coastal plain of Chesapeake Bay Basin, United States, Appl. Geochem., 18, 483 – 501

Millward, G.E. and Y.P. Liu, (2003). Modeling metal desorption kinetics in estuaries. Sci. Total Environ., 314-316: 613-623.

Mirecki, J.E. and Parks, W.S., (1994), Leachate geochemistry at a municipal landfill, Memphis, Tennessee, Ground Water 32 (3), 390-398

Mishra, V.K., Upadhyay, A.R., Pandey, S.K., Tripathi, B.D., (2008). Concentrations of heavy metals and aquatic macrophytes of Govind Ballabh Pant Sagar an anthropogenic lake affected by coal mining effluent. Environ. Monit. Assess. 141, 49–58.

Mohamed H. Abdo (2005). Assessment of some heavy metalsmajor cations and organic matter in the recent sediments of bardawil lagoon, Egypt. Egyptian journal of aquatic Research, Vol. 31., 1. 2005

Mor S, Ravindra K, Dahiya RP, Chandra A (2006) Leachate characterization and assessment of groundwater pollution near municipal solid waste landfill site. Environ Monit Assess 118:435–456

Mor, S., Ravindra, K., Vischher, A. R. P. Dahiya and A. Chandra, (2005). Municipal Solid Waste Characterisation and its assessment for potential methane generation at Gazipur Landfill Site, Delhi: A case study. Bioresource Technology, Communicated.

Moturi, M. C. Z.; Rawat, M. and V. Subramanian, (2004). Distribution and fractionation of heavy metals in solid waste from selected sites in the industrial belt of Delhi, Environmental Monitoring and Assessment, vol. 95, pp. 183-199,.

Muniz, P. DANULAT, E. YANNICELLI, B. GARCIA-ALONSO, J. MEDINA, G. AND BICEGO MC. (2003). Assessment of contamination by heavy metals and petroleum hydrocarbons in sediments of Montevideo harbour (Uruguay). Environ Int 1096: 1–10.

N

Navee.B.P, Anil kumar sharma, Sivapualliah. P.V.,Sitharam.T.G.,Ashwath Narayan.M.S (2013), "Characterisitcs of the Leachate from MSW Landfill,Bangalore", Silver Jubilee Celebrations of Indian Chapter of IGS - International Symposium "Geosynthetics India-2013", 24-25 October, New Delhi, India, pp.139-145.

Nelson J.S. (1994). Fishes of the world. 3rd ed. John Wiley and Sons. New York.

Noël, L., Chekri, R., Millour, S., Merlo, M., Leblanc, J.-C., Guérin, T., 2013. Distribution and relationships of As, Cd, Pb and Hg in freshwater fish from five French fishing areas. Chemosphere 90, 1900–1910, http://dx.doi.org/10.1016/j. chemosphere.2012.10.015.

Noguera, J.F., Rivero, L., Font, X., Navarro, A., Martinez, F., (2002), Simultaneous use of geochemical and geophysical methods to characterise abandoned landfills, Environmental Geology 41, 898-905

Nur, A., Ishaku, J.M., Yusuf, S.N., (2012), Groundwater flow patterns and hydrochemical facies distribution using geographical information system (GIS) in Damaturu, Northeast Nigeria, International Journal of Geosciences 3, 1096-1106, doi: 10.4236/ijg.2012.35111

<u>0</u>

Obarska-Pempkowiak, H., and Klimkowska, K. (1999). Distribution of nutrients and heavy metals in a constructed wetland system. Chemosphere. 39(2), 303-312.

Obasohan, E.E, Oronsaye, J.A.O. (2004) Bioaccumulation of Heavy metals by some Cichlids from Ogba River, Benin City, Nigeria. Nigerian Annals of Natural Sciences, 5:11-27.

OCDE ; Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques: Essai de toxicité sur le cycle de vie des chironomes dans un système eau-sédiment chargé ou eau chargée-sédiment ; 2010

OKGERMAN H., O. MUAMMER, S. YIGIT. 2009. Biological Aspects of Rutilus rutilus in Sapanca Lake (Turkey). - Journal of Animal and Veterinary Advances, 8: 441- 446

Oksanen, J., Blanchet, G., Kindt, R., Minchin, P.R., Legendre, P., O'Hara, B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H. & Wagner, H. (2011) vegan: Community Ecology Package. R package Version 2.0-2. Available at: http:// cran.r-project.org/pakageovegan.

Okweye, P., Tsegaye, T. and Golson-Garner, K. (2009). The assessment of Heavy metal pollution in surfacial soils of the Flint Creek. Alabama A&M University, Normal, USA

Olaniya, M. S. and K. L. Saxena, 1977. Ground water pollution by open refuse dumps at Jaipur. Ind J. Environ. Health 19, 176-188.

Olivero-Verbel, J., Padilla-BoLet, C., De la Rosa, O., (2008). Relationships between physicochemical parameters and the toxicity of leachates from a municipal solid waste landfill. Ecotoxicol. Environ. Saf. 70, 294–299. doi:10.1016/j.ecoenv.2007.05.016

Öman C. B. and Junestedt C. (2008) Chemical characterization of landfill leachates - 400 parameters and compounds. Waste Management, 28(10), 1876-1891.

Orupõld, K., Tenno, T., Henrysson, T., (2000), Biological lagooning of phenols-containing oil shale ash heaps leachate, Water Research 34, 4389-4396

Osmond, D. L., Line D. E., Gale J. A., Gannon R. W., Knott C. B., Bartenhagen K.A., Turner M. H., Coffey S. W., Spooner J., and Lehning D.W., (1995), Water, Soil and Hydro – Environmental Decision Support System, URL: www.water.ncsu.edu/watersheds/info/hmetals.html

Øygard ,at el.(2008)Trace element exposure in the environment from MSW landfill leachate sediments measured by a sequential extraction technique. Journal of Hazardous Materials 153 (2008) 751–758

Øygard, J.K., Gjengedal, E., Røyset, O., (2007). Size charge fractionation of metals in municipal solid waste landfill leachate. Water Research. 41, 47-54.

ÖZDEN, Ö. (2008). Study of seasonal heavy metal and macronutrient mineral profile of mussels using inductively coupled plasma mass spectrometry methods. - Fresenius Environmental Bulletin, 17(9a): 1300-1306.

ÖZDEN, Ö., N. ERKAN, M. DEVAL. (2009). Trace mineral profiles of the bivalve species Chamelea gallina and Donax trunculus. - Food Chemistry, 113: 222-226.

Ozkaya, B. (2005). Chlorophenols in Leachates Originating from Different Landfills and Aerobic Composting Plants. Journal of Hazardous Materials 124(1-3):107-112.

Ozkaya, B., Demir, A. & Bilgili, M. S. 2006, 'Mathematical simulation and long-term monitoring of leachate components from two different landfill cells', Journal of Hazardous Materials, vol. 135, no. 1-3, pp. 32-39.

Ozkaya, B., Demir, A. & Bilgili, M. S. 2006, 'Mathematical simulation and long-term monitoring of leachate components from two different landfill cells', Journal of Hazardous Materials, vol. 135, no. 1-3, pp. 32-39.

<u>P</u>

Pacey, J.G. (1986), 'The factors influencing landfill gas production Proc. UK D.EnlUS DOE Conf. Solihull, UK OCT 28-31. pp 51-59.

Pais, I., Jones, J.B., (2000). The Handbook of Trace Elements. St. Luice Press, Florida. Pan, Y., Brugam, R. B. (1997). Human Disturbance and Tropic Status Changes in Crystal Lake, Mc Henry County, Illinois, U.S.A., J. Paleolimnology 17:369 – 376.

Pandey, M. ; Pandey, A.K. ; A. Mishra, B. Tripathi, Assessment of metal bioaccumulation in Clarias batrachus and exposure evaluation in human, Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences, 4 (2014) 176-184.

Pavoni, M., (1963). Die Bedeutung des Nanoplankton. Schweitz. Z. Hydrol., 25, 219-341.

Peak, D., G.W. Luther, and D.L. Sparks. 2002. ATR-FTIR spectroscopic studies of boric acid adsorption on hydrous ferric oxide. Geochim. Cosmochim. Acta 67:2551-2560.

Pekey, H., (2006). The distribution and sources of heavy metals in Izmit Bay surface sediments affected by a polluted stream. Mar. Pollut. Bull., 52(10): 1197-1208.

Perceval, O., Couillard, Y., Pinel-Alloul, B., Campbell, P.G.C., (2006). Linking changes in subcellular cadmium distribution to growth and mortality rates in transplanted freshwater bivalves (Pyganodon grandis). Aquat. Toxicol. 79, 87–98. doi:10.1016/j.aquatox.2006.05.008

Péry, A.R., Sulmon, V., Mons, R., Flammarion, P., Lagadic, L., Garric, J., (2003). A model to understand the confounding effects of natural sediments in toxicity tests with Chironomus riparius. Environ. Toxicol. Chem. 22, 2476–2481.

Péry, A.R.R., Garric, J., (2006). Modelling Effects of Temperature and Feeding Level on the Life Cycle of the Midge Chironomus Riparius: An Energy-Based Modelling Approach. Hydrobiologia 553, 59–66. doi:10.1007/s10750-005-1284-0

Péry, A.R.R., Geffard, A., Conrad, A., Mons, R., Garric, J., (2008). Assessing the risk of metal mixtures in contaminated sediments on Chironomus riparius based on cytosolic accumulation. Ecotoxicol. Environ. Saf. 71, 869–873. doi:10.1016/j.ecoenv.2008.04.009

Peverly, J., Surface, J., Wang, T., (1995). Growth and trace-metal absorption by Phragmites australis in wetlands constructed for landfill leachate treatment. Ecol. Eng. 5, 21–35. Pezeshki, S.R., (2001). Wetland plant responses to soil flooding. Env. Exp. Bot., 46, 299–312.

Philpott, M.J., Reid, R.C., Davies, J.N., Last, S.D. and Boldon, J.M. (1992) Environmental control measures at Greengairs landfill site. J Jnst.Wat.EnvMan. 6(1), 38-47.

Piétrasanta, Y. et Bondon, D., (1994), Le lagunage écologique, Poche Environnement, Ed. Economica Racault, Y. et Boutin, C., 2004, Le lagunage naturel en France - Etat de l'art et tendances, Ingénieries n° spécial, 77-86

Pinder, A. C. (2001). Keys to larval and juvenile stages of coarse fishes from fresh waters in the British Isles. Freshwater Biological Association, Scientific Publication No. 60. The Ferry House, Far Sawrey, Ambleside, Cumbria, United Kingdom. Scientific Publication No. 60. 136 p.

Pinel P. Amouroux D. Le Hecho I. Donard O. and Potin-Gautier M. (2005) Influence of sample processing on metals and metalloids partitioning and speciation in landfill leachates. Tenth international waste management and landfill symposium, Sardinia, Italy.

Pinel-Raffaitin P, Ponthieu M, Le Hecho I, Amouroux D, Mazeas L, Donard, Potin-Gautier M. (2006). Evaluation of Analytical Strategies for the Determination of Metal Concentrations to Assess Landfill Leachate Contamination. Journal of Environmental Monitoring 8(10):1069-77.

Pivato, A., Gaspari, L., (2006). Acute toxicity test of leachates from traditional and sustainable landfills using luminescent bacteria. Waste Manag. 26(10):1148-55.

Pohland FG, Harper SR (1985). Critical Review and Summary of Leachate and Gas Production from landfills, US Environmental Protection Agency, Cincinnati; EPA/600/2-86/073.

Pohland, F.G. (1991) Fundamental principles and management strategies for landfill codisposal practices. In Sardinia 91, Proc. Third International Symposium. Vol 2. Grafiche Galeati, Imola. ppl445-1460.

Pourret, O., Dia, A., Davranche, M., Gruau, G., Hénin, O., Angée, M., 2007. Applied Geochemistry. 22, 1568-1582.

Powlesland C. and George I.C. (1986) - Acute and chronic toxicity of nickel to larvae of Chironomus riparis (Meigen). Environ Pollut 42, 42, 1, 47-64.

Prudêncio, M. I., Gonzalez, M. I., Dias, M. I., Galan, E., & Ruiz, F. (2007). Geochemistry of sediments from El Melah lagoon (NE Tunisia): A contribution for the evaluation of anthropogenic inputs. Journal of Arid Environments, 69, 285–298. doi:10.1016/j.jaridenv.2006.10.006.

<u>Q</u>

Quasim, S. R. and W. Chiang, (1994).Sanitary Land®ll Leachate Generation, Control & Treatment, Technomic, Lancaster, PA.

R

Raczyński m., P. Czerniejewski, M. Witkowska, B. Kiriaka. (2008). Age and growth rate of roach from three lakes used for recreational fishing. - Teka Kom. Ochr. Kszt. Środ. Przyr., 5: 106-116.

Rai, H., (1988). Activity of respiratory electron transport system (ETS) in different size particles as a measure of carbon losses from primary producers. Verh. Internat. Verein. Limnol., 23, 503-504.

Rai, L.C., Singh, A.K, Mallick, N., (1991). Studies on photosynthesis, the associated electron transport system and some physiological variables of Chlorella vulgaris under heavy metal stress. J. Plant Phys., 137, 419-424.

Rainbow P. S. (1988). The significance of trace metal concentraMons in decapods. Symp. zool. Sac., Lond. 59, 291-313.

Rainbow P. S. and White S. L. (1989). ComparaMve strategies of heavy metal accumulation by crustaceans: zinc, copper and cadmium in a decapod, an amphipod and a barnacle. Sydrobiologia 174, 245-262.

Rajkowska, M., Protasowicki, M., (2013). Distribution of metals (Fe, Mn, Zn, Cu) in fish tissues in two lakes of different trophy in Northwestern Poland. Environ. Monit. Assess. 185, 3493–3502, http://dx.doi.org/10.1007/s10661-012-2805-8.

Rashed, M.N., (2001). Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. Environ. Int. 27, 27–33.

Rees, J.F. and Grainger, J.M. (1982) Rubbish dump or fermenter? Prospects for the control of refuse fermentation to methane in landfills. Process Biochemistry, 17(6), 41-44

Reilly, C. (2002) Metal contamination of food. Backwell Science Limited. USA, 81-194.

Reinhart RD, Grosh CJ (1998). Analysis of Florida Municipal Solid Waste Landfill Leachate Quality, Report #97-3, Florida Center for Solid and Hazardous Waste Management.

Reinhart, D. (2010) Landfi ll Gas to Energy: Incentives and Benefi ts Report No. 08-32026.

Renou S., Poulain S., Gagnaire J., Marrot B. et Moulin P., (2008). L'Eau, L'Industrie, Les Nuisances, 310.

Renou, S., Givaudan, J.G., Poulain, S., Dirassouyan, F., Moulin, P., (2008). Landfilleachate treatment: Review and opportunity. Journal of Hazardous Materials ,150,468-493.

Rieber, C.; Fredriksen, G.S. and Christensen, T.H. (2005). Heavy metal content of combustible municipal solid waste in Denmark, Waste Manage. Res. 23,126–132.

Riemann, B., Christoffersen, K., 1993. Microbial trophodynamics in temperate lakes. Mar. Microb. Food Webs 7, 69–100

Rieradevall M, García-Berthou E, Prat N. Chironomids in the diet of fish in Lake Banyoles (Catalonia, Spain). In: Cranston P, editor. Chironomids: from genes to ecosystems. Melbourne, Australia: CSIRO Australia; (1995). p. 335–40.

Roberto Merciai a,n, Helena Guasch a, Awadhesh Kumar a, Sergi Sabater a,b, Emili García-Berthou, (2014). Trace metal concentration and fish size: Variation among fish species in a Mediterranean river. Ecotoxicology and Environmental Safety 107(2014) 154-161.

Robinson H.D. & Lucas J.L. (1985). Leachate attenuation in the unsaturated zone beneath landfills: instrumentation and monitoring of a site in southern England. Water Sciences Technology, 17, 477 492.

Robinson, A. H. (2005). 'Landfill leachate treatment', Membrane Technology, vol. 2005, no. 6, pp. 6-12.

Roling, W. F., van Breukelen, B. M., Braster, M., Lin, B. & van Verseveld, H. W. (2001). 'Relationships between microbial community structure and hydrochemistry in a landfill leachate-polluted aquifer', Applied And Environmental Microbiology, vol. 67, no. 10, pp. 4619-4629.

S

Saarela, J., (2003). Pilot investigations of surface parts of three closed landfills and factors affecting them Environ. Monit. Assess. 84,183-192.

Salem, Z.B., Laffray, X., Ashoour, A., Ayadi, H., Aleya, L., (2014). Metal accumulation and distribution in the organs of Reeds and Cattails in a constructed treatment wetland (Etueffont, France). Ecol. Eng. 64, 1–17. doi:10.1016/j.ecoleng.2013.12.027

Samecka-Cymerman, A., Stepien, D., Kempers, A.J., (2004). Efficiency in removing pollutants by constructed wetland purification systems in Poland. J. Toxicol. Environ. Health A 67, 265–275.

Samecka-Cymermana, A., A.J. Kempers, (2001). Concentrations of heavy metals and plant nutrients in water, sediments and aquatic macrophytes of anthropogenic lakes (former open cut brown coal mines) differing in stage of acidification. Science of the Total Environment. Volume 281, Issues 1–3. Pages 87–98.

Samkari, M.A. (2004). Ecological Study for Phytoplankton Causing Harmful Algal Bloom (HAB) In Jeddah Coastal Water (Red Sea), M. Sc. Thesis .

Sánchez-Marín, P., ForMn, C., Campbell, P.G.C., (2014). Lead (Pb) and copper (Cu) share a common uptake transporter in the unicellular alga Chlamydomonas reinhardMi. BioMetals 27, 173–181. doi:10.1007/s10534-013-9699-y

Sandroni V. Smith C.M.M. Donovan A. (2003). Microwave digestion of sediment soils and urban particulate matter for trace metal analysis. Talanta 60 715–723.

Sanità di Toppi, L., Gabbrielli, R., (1999). Response to cadmium in higher plants. Environ. Exp. Bot. 41, 105–130.

Sasmaz, A., Obek, E., Hasar, H., (2008). The accumulation of heavy metals in Typha latifolia L. grown in a stream carrying secondary effluent. Ecol. Eng. 33, 278–284.

Sasmaz, A., Sasmaz, M., (2009). The phytoremediation potential for strontium of indigenous plants growing in a mining area. Environ. Exp. Bot. 67, 139–144.

Sawidis, T., Chettri, M.K., Zachariadis, G.A., Stratis, J.A., (1995). Heavy metals in aquatic plants and sediments from water systems in Macedonia, Greece. Ecotoxicol. Environ. Saf. 32, 73–80.

Schierup, H., Larsen, V., (1981). Macrophyte cycling of zinc, copper, lead and cadmiumin the littoral-zone of a polluted and a non-polluted lake. 1. Availability, uptake and translocation of heavy-metals in Phragmites australis (cav) Trin. Aquat. Bot. 11, 197–210.

Schreiber, M.E., Moline, G.R., Bahr, J.M., (1999). Using hydrochemical facies to delineate ground water flowpaths in fractured shale, GWMR (Ground Water Monitoring and Remediation) winter 1999, 95-109

Schwarzbauer J., Heim S., Brinker S., Littke R., Water Res, 36 (2002) 2275–2287.

Scott, J.E. (1994). Designing constructed wetland to treat landfill leachate . Thesis , University of Western Sydney; Australia.

Seager, J., Wolff, E.W. and Cooper, V.A. (1988). Proposed Environmental Quality Standards for List II Substances in Water, Ammonia. WRC Report No. TR26O.

Segner H. (1987). Response of fed and starved roach Rutilus rutilus, to sublethal copper contamination. J. Fish Biol. 30: 423–437.

Sharkey, T.D., (1985). Photosynthesis in intact leaves of C3 plants: physics, physiology and rate limitations. Bot. Rev. 51: 53–105.

Shazili, N.A.M.; Yunus, K.; Ahmad, A.S.; Abdullah, N.; M.K.A. Rashid, (2006). Heavy metal pollution status in the Malaysian aquatic environment, Aquatic Ecosystem Health & Management, 9 137-145.

Sheoran, A.S. and Sheoran, V. (2006). Heavy metal removal mechanism of acid mine drainage in wetlands: a critical review. Miner Eng 19, 105–116.

Shinn, C., Dauba, F., Grenouillet, G., Guenard, G., Lek, S., (2009). Temporal variation ofheavy metal contamination in fish of the river lot in southern France. Ecotoxicol.Environ. Saf. 72, 1957–1965.

Sieburth JM, Smetacek V, Lenz J (1978). Pelagic ecosystem structure: heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. Lirnnol Oceanogr 23:1256-1263

Siedliecka, A., Baszynski, T., (1993). Inhibition of electron flow around photosystem I in chloroplasts of Cd-treatedmaize plants is due to Cd-induced iron deficiency. Physiol. Plant. 87, 199–202.

Silva, A. C., Dezotti, M., Sant'Anna, Jr., G. L. 2004. Treatment and detoxification of a sanitary landfill leachate.

Silva, M. A. L., & Rezende, C. E. (2002). Behavior of selected micro and trace elements and organic matter in sediments of a freshwater system in south-east Brazil. The Science of the Total Environment, 292, 121–128.

Silva-Filho, E.V., Sella, S.M., Spinola, E.C., Santos, I.R., Machado, W., Lacerda, L.D., (2006). Mercury, zinc, manganese, and iron accumulation in leachate pond sediments from a refuse tip in Southeastern Brazil. Microchemical Journal 82, 196–200.

Simon, N.; Cras, A.L.; Foulon E. and Lemée, R. (2009). Diversity and evolution of marine phytoplankton. C. R. Biologies 332: 159–170.

Sims, J.R. and Bingham, F.T. (1968). Retention of boron by layer silicates, sesquioxides, and soil materials: II. Sesquioxides. Soil Sci. Soc. Am. J. 32:364-373.

Singlande, E. ; Roux-de Balmann, H. ; Lefevbre X. and Spérandio M. (2006). Improvement of the treatment of salted liquid waste by integrated electrodialysis upstream biological treatment. Desalination, 199, 64-66.

Sirinawin, W., and Sompongchaiyakul, P. (2005). Nondetrital and total metal distribution in core sediments from the UTaphao Canal, Songkhla, Thailand. Marine Chemistry, 94, 5–16.

Sjahrul M. (2014). Studies on the level of heavy metals in the antarctic fish. Eur. Chem. Bull., 2014, 3(2), 138-141.

Slomczyńska B, Słomczyński T. (2004). Review Physico-Chemical and Toxicological Characteristics of Leachates from MSW Landfills. Polish Journal of Environmental Studies 13(6):627-637.

Smith and Carson, (1981). IN N.K. Nagpal TECHNICAL REPORT – WATER QUALITY GUIDELINES FOR COBALT [electronic resource]. ISBN 0-7726-5229-5

Smith, R.E.H. and Kalff, J., (1983). Competition for phosphorus among co-occuring freshwater phytoplankton. Limnol. Oceanogr., 28, 448-464.

Smolders A.J.P.; Lock R.A.C.; Van der Velde G.; Hoyos R.I.M. and Roelofs J.G.M. (2003). Effects of mining activities on heavy metal concentrations in water, sediment, and macroinvertebrates in different reaches of the Pilcomayo River. S Am. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 44(3): 314–323.

Solomons N. W. (1998). Mild human zinc deficiency produces an imbalance between cellmediated and humoral immunity. Nutr Rev; 56:27-8. [PubMed abstract]

Sompongchaiyakul, P. and Sirinawin, W. (2007). Arsenic, chromium and mercury in surface sediment of Songkhla Lake system. Thailand. Asian Journal of Water Environmental Pollution, 4, 17–24.

Šottníková, A., Lunáčková, L., Masarovičová, E., Lux, A., Streško, V., (2003). Changes in the rooting and growth of willows and poplars induced by cadmium. Biol. Plant. 46, 129–134.

Southichak, B., Nakano, K., Nomura, M., Chiba, N., Nishimura, O., (2006). Phragmites australis: a novel biosorbent for the removal of heavy metals from aqueous solution. Water Res. 40, 2295–2302.

Statom, R. A.; Thyne, G. D. and McCray, J. E. (2004). 'Temporal changes in leachate chemistry of a municipal solid waste landfill cell in Florida, USA', Environmental Geology, vol. V45, no. 7, pp. 982-991.

Stefanakis, A.I., Tsihrintzis, V.A., (2012). Effects of loading, resting period, temperature, porous media, vegetation and aeration on performance of pilot-scale vertical flow constructed wetlands. Chem. Eng. J. 181–182, 416–430.

Steinmann, C.R.; Weinhart, S. and Melzer, A., (2003). A combined system of lagoon and constructed wetland for an effective wastewater treatment, Water Research 37, 2035-2042

Stevens D.G. and Chapman G.A. (1984). Toxicity of trivalent chromium to early life stage of Steelhead trout. Environ. Toxicol. Chem., 5, 125.

Stiborova, M., Hromadkova, R., Leblova, S., (1986). Effect of ions of heavy metals on the pho- tosynthetic apparatus of maize (Zea mays L.). Biologia 41, 1221–1228.

Stockner, JG. and Antia, NJ. (1986). Algal picoplankton from marine and freshwater ecosystems: a multidisciplinary perspective. Can J Fish Aquat Sci. 43:2472-2503

Stoyanova, D., Chakalova, E., (1990). The effect of cadmium on the structure of photosynthetic apparatus in Elodea canadensis rich. Plant Physiol. 16 (3), 18–26.

Stuart, M.E., and. Klinck. B.L. (1998). "A catalogue of leachate quality for selected landfills from newly industrialised countries." Technical Report WC/98/49, British Geological Survey.

Su, C., and Suarez. D.L. (1995). Coordination of adsorbed boron: a FTIR spectroscopy study. Environ. Sci. Technol. 29:302-311.

Swiderska-Bróz (1993). Micro-pollution in a water environment – (in Polish). system Environ. Technol. 35, 456–469.

T

Takahashi, M. & Bienfang, P.K., (1983). Size structure of phytoplankton biomass and photosynthesis in subtropical Hawaiian waters. Mar. Biol., 76, 203-211.

Takamura, N.; Iwakuma, T and Masayukiy Y. (1986). Photosynthesis of size fraction a –ted phytoplankton in hyper – trophie lake. Kusmugaura.Cczcn. Arch., Hydrobiol., 113, 23S-2S7. Tanner, C.C., (1996). Plants for constructed wetland treatment systems — a comparison of the growth and nutrient uptake of eight emergent species. Ecol. Eng. 7, 59–83.

Tarrio, J.; Jaffor, M. and M. Ashraf, (1991). "Levels of Selected Heavy Metals in Commercial Fish from Five Fresh Water Lake in Pakistan," Toxicological & Environmental Chemistry, Vol. 33, No. 1-2, , pp. 133-140.

Taylor, G., Crowder, A., (1983). Uptake and accumulation of copper, nickel, and iron by Typha latifolia grown in solution culture. Can. J. Bot. 61, 1825–1830.

Taylor, R., and A. Allen. (2006). "Waste disposal and landfill: Potential hazards and information needs." In Protecting Groundwater for Health: Managing the Quality of Drinking-water Sources, by World Health Organization, edited by O. Schmoll, G. Howard, J. Chilton and I. Chorus, 339-362. London: IWA Publishing,

Thomas R. et Meybeck M. (1992). The use of particulate material, In Chapman D. Eds. Water Quality Assessments. A guide to the use of Biota sediments and Water in environmental monitoring. Chapman & Hall Ltd. London, 121-170.

Thyssen M. (2008). Analyse à haute fréquence spatiale et temporelle du phytoplancton à l'aide de la cytométrie en flux automatisée et immergeable. Thèse de doctorat. pp.217.

Tilghman, A.; Garric, J. and Coquery, M., (2009). La mesure des contaminants dans le biote: avantages et inconvénients pour la surveillance chimique du milieu continental. C Dp O-CPolluantes Ed Lyon 56.

Timmermans, K.R.; Peeters, W. and Tonkes, M. (1992). Cadmium, zinc, lead and copper in *Chironomus riparius* (Meigen) larvae (Diptera, Chironomidae): uptake and effects. Hydrobiologia 241, 119–134.

Toet S. Bouwman M. Cevaal A. Verhoeven J.T.A. 2005. Nutrient removal through autum harvest of Phragmites australis and Typha latifolia shoots in relation to nutrient loading in a wetland system used for polishing sewage treatment plant effluent. J. Environ. Sci. Heal. Part –Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng. 40 1133–1156.

Tonkin JW. ; Balistrieri, LS. and Murray JW. (2004). Modeling sorption of divalent metal cations on hydrous manganese oxide using the diffuse double layer model. Appl Geochem 19:29–53.

Torri, S. and Lavado, R. (2008). Zinc distribution in soils amended with different kinds of sewage sludge. Journal of Environmental Management. 88, 1571-1579.

Tóth SZ (2006) Analysis and application of the fast chl-a fluorescence (OJIP) transient complemented with simultaneous 820 nm transmission measurements. Doctoral thesis, N° 3741, University of Geneva, Switzerland. Available at: http://www.unige.ch/cyberdocuments/theses2006/TothSZ/meta.html Turk. J. Bot. 25, 11–121.

Tüzen M. (2003). Determination of heavy metals in fish samples of the middle Black Sea (Turkey) by graphite furnace atomic absorption spectrometry. Food Chem. 80 119–123.

U

U.S. Environmental Protection Agency (USEPA),(2005), Nonpoint Source Control Branch (4503T) 1200Pennsylvania Avenue, NW Washington, DC 20460.

Udosen, E. D. (2006). Determination of trace metals and fluxes in sediments along a segment of Qua Ibeo River in Southern Nigeria. Journal Natural and Applied Science., 2: 82 90

Urase, T.; Salequzzaman, M.; Kobayashi, S.; Matsuo, T.; Yamamoto, K. and Suzuki, N. (1997). Effect of high concentration of organic and inorganic matters in landfill leachate on the treatment of heavy metals in very low concentration level. Water Sci. Technol. 36, 349–356.

US Environmental Protection Agency (USEPA). (1995). National Primary Drinking Water Regulations. EPA 811-F-95-002 a-t. [Internet]. Available from: http://www.epa.gov/safewater/pdfs/factsheets/ioc/tech/nickel.pdf Technical Factsheet on: Nickel. 119–134.

Ustohalova, V.; Ricken, T. and Widmann, R. (2006) 'Estimation of landfill emission lifespan using process oriented modeling', Waste Management, vol. 26, no. 4, pp. 442-450.

V

Van Breukelen B.M. (2003). Natural Attenuation of Landfill Leachate: a Combined Biogeochemical Processes Analysis and Microbial Ecology Approach, Academisch Proefschrift, Amsterdam.

Van de Bund, W. (1994). Food Web Relations of Littoral Macro-and Meiobenthos. PhD thesis. University of Amsterdam, Amsterdam, the Netherlands.

Van Hattum, B.; Korthals, G.; Van Straalen, N.M.; Govers, H.A.J. and Joosse, E.N.G. (1993). Accumulation paLerns of trace metals in freshwater isopods in sediment bioassays—influence of substrate characteristics, temperature and pH. Water Res. 27, 669–684.

Vangronsveld, J., Clijsters, H., (1992). A biological test system for the evaluation of metal phytotoxicity and immobilization by additives in metal - contaminated soils. In: Merian, E and Haerdi W (Eds), Metal Compounds in Environment and Life, 4 (Interrelation Between Chemistry and Biology). Sci. Tech. Letters, Northwood, pp. 117-125.

Ventelä, A.-M.; Wiackowski, K.; Moilainen, M.; Saarikari, V.; Vuorio, K. and Sarvala, J. (2002). The effect of small zooplankton on the microbial loop and edible algae during a cyanobacterial bloom. Freshwater Biol. 47, 180-1819.

Verlencar, X.N. (1987). Distribution of nutrients in the coastal and estuarine waters of Goa. Mabasager, Bull. Nat: Inst. Oceangr, 20(4): 205-215.

Vogt, C.; Pupp, A.; Nowak, C.; Jagodzinski, L.S.; Baumann, J.; Jost, D.; Oetken, M. and Oehlmann, J. (2007). Interaction between genetic diversity and temperature stress on life-cycle parameters and genetic variability in midge *Chironomus riparius* populaMons. Clim. Res. 33, 207.

Vymazal, J. (2003). Distribution of iron, cadmium, nickel and lead in a constructedwetland receiving municipal sewage. In: Vymazal, J. (Ed.), Wetlands – Nutrients, Metals and Mass Cycling. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp.341–363.

Vymazal, J., Krása, P. (2003). Distribution of Mn, Al, Cu and Zn in a constructed wetlandreceiving municipal sewage. Water Sci. Technol. 48, 299–305.

Vymazal, J., Švehla, J., Kröpfelová, L., Němcová, J., Suchý, V., (2010). Heavy metals in sediments from constructed wetlands treating municipal wastewater. Biogeochemistry 101, 335–356.

Wahby, S. D.; Yousef, S. F. and Bishara, N. F. (1972). Further studies on the hydrography and chemistry of lake Manzala. Inst. Oceanogr. And Fish. Alex., 401-422p.

Wallace, W.G. and Luoma, S.N. (2003). Subcellular compartmentalization of Cd and Zn in two bivalves. II. Significance of trophically available metal (TAM). Mar. Ecol. Prog. Ser. 257,

Wallace, W.G.; Lee, B.-G., and Luoma, S.N. (2003). Subcellular compartmentalization of Cd and Zn in two bivalves. I. Significance of metal-sensitive fractions (MSF) and biologically detoxified metal (BDM). Mar. Ecol. Prog. Ser. 249, 183–197.

Wang-Yao, K.; Towprayoon, S. ; Chiemchaisri, C. ; S. H. Gheewala, and Nopharatana, A. (2010). "Application of the IPCC Waste Model to solid waste disposal sites in tropical countries: case study of Thailand." Environmental Monitoring Assessment 164: 249-261.

Warren, C.; Mackay, D. ; Whelan M. and Fox, K. (2005). Mass balance modelling of contaminants in river basins: A flexible matrix approach. Chemosphere, 61: 1458-1467.

Weis, J.S., Weis, P., (2004). Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. Environ. Int. 30, 685–700. Wetzel, R.G. (1983). Limnology. (Saunders Colleges Publishing, Sydney).

WHO, (1989). "Environmental Health Criteria 108: Nickel. International Programme on Chemical Safety," World Health Organization, http://www.inchem.org/documents/ehc

Who. (1994). quality directive of portable water. 2-nd edn. geneva, 197 p.

Williamson, B.; Lewis, G.; Mills, G. and Vant, B. (2003) 'Contaminants on the coast', in J. R. Goff, S. L. Nichol & H. L. Rouse (ed.), The New Zealand Coast: Te Tai o Aotearoa, Dunmore Press, Palmerston North, New Zealand, pp. 237 - 259.

Williamson, R. B. and Wilcock, R. J. (1994). The Distribution and Fate of Contaminants in Estuarine Sediments: Recommendations for environmental monitoring and assessment, Technical Publication No. 47, Auckland Regional Council, Auckland, New Zealand.

Winterlund, A., and Ingri, J. (1996). Redox cycling of iron and manganese in sediments of the Halix River Estuary, Northern Sweden. Aquatic Geochemistry, 2, 185–201. doi:10.1007/BF00121631.

Wojciechowska, E., Waara, S., (2011). Distribution and removal efficiency of trace metals in two constructed wetlands treating landfill leachate. Water Science and Technology 64, 1597–1606.

World Health Organization (WHO), (2002). Guideline for drinking water quality. Health criteria and other supporting information. World Health Organization, Geneva, pp 940–949

Yang, X.E., Long, X.X., Ye, H.B., He, Z.L., Calvert, D.V., Stoffella, P.J., (2004). Cadmium tolerance and hyperaccumulation in a new Zn-hyperaccumulating plant species (*Sedum alfredii* Hance). Plant Soil, 259, pp. 181-189.

Ye, Z.H., Baker, A.J.M., Wong, M.H., Willis, A.J., (1997). Zinc, lead and cadmium tolerance, uptake and accumulation by Typha latifolia. New Phytol. 136, 469–480.

Yi, Y.-J. and Zhang, S.-H. (2012). Heavy metal (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) concentrations in seven fish species in relation to fish size and location along the Yangtze River. Environ. Sci. Pollut. R. 19, 3989–3996, http://dx.doi.org/10.1007/s11356-012-0840-1.

Yildiz E. D. and Unlu K. (2003). Effects of landfill development on leachate characteristics. Ninth international waste management and landfill symposium, Sardinia, Italy.

Z

Zaaboub, N., Ounis, A., Helali, M.A., Béjaoui, B., Lillebø, A.I., Ferreira da Silva, E., Aleya, L., (2014). Phosphorus speciation in sediments and assessment of nutrient exchange at the water–sediment interface in a eutrophicated Mediterranean lagoon: what are the ecological implications? Ecol. Eng. 73, 115–125.

Zabetoglou, K.; D. Voutsa and Samara, C. (2002). Toxicity and heavy metal contamination of surfucial sediment from bay of thessaloniki (North Western Aegean Sea). Greece Chemosphere, 49: 17-26.

Zarazua G. ; Avila- Perez.; Teieda S.; Barcelo – Ouintal I. and Martinez T. (2006). Analysis of total and dissolved heavy metals in surface water of a Mexican polluted river by Total Reflection X-ray Fluorescence Spectrometry, spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 61, 1180-1184.

Zhao, F.J., Hamon, R.E., Lombi, E., Mc Laughlin, M.J., Mc Grath, S.P., (2002). Characteristics of cadmium uptake in two contrasting ecotypes of the hyperaccumulator Thlaspi caerulescens. J. Exp. Bot. 53, 535–543.

Zoumis, T.; Schmidt, A.; Grigorova, L. and Calmano, W. (2001). Contaminants in sediments: remobilization and demobilisation. Sci. Total Environ. 266, 195–202, http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00740-3.

Zwolsman, J.J.G.; Berger, J.W. and Vaneck, J.T.M. (1993). Sediment accumulation rates, historical input, post depositional mobility and retention of major elements and trace-metals in salt-marsh sediments. Mar. Chem. 44, 73–94.

Résumé

L'objectif de ce travail de thèse est d'évaluer le degré de contamination des différents compartiments du site de la décharge d'Étueffont à savoir : les lixiviats, les sédiments, l'eau souterraine, les poissons, les insectes et les microorganismes de la décharge d'Étueffont. Ce travail de recherche est structuré en neuf chapitres.

Après une première partie (Part I) consacrée à une étude bibliographique, le deuxième chapitre (Part II) présente le site d'étude, c'est-à-dire l'installation de stockage de déchets non dangereux(ISDND) d'Étueffont. La troisième partie (Part III) est consacrée à l'analyse de la qualité des lixiviats dans les lagunes, les unités de stockage des déchets « Nouveau casier », « Sous casier », « Ancienne décharge », les ruisseaux du gros Pré et Mont Bonnet. La quatrième partie (Part IV) intitulée « Contamination métallique des sédiments du site de la décharge d'Étueffont », aborde l'étude de la variation spatiotemporelle des éléments traces métalliques au niveau des lixiviats et des sédiments dans les quatre lagunes du site de la décharge d'Étueffont. Afin de déterminer le degré de contamination métallique des lixiviats et des sédiments, nous avons procédé à un suivi de certains éléments localisés en amont, au milieu et en aval de chaque lagune avec un pas d'échantillonnage trimestriel entre octobre 2013 et avril 2016. La cinquième partie (Part V), complémentaire du chapitre précédent, définit plus précisément la distribution spatiale du panache à travers l'analyse de la qualité de l'eau souterraine au moyen de piézomètres. La sixième partie (Part VI) concerne les effets des métaux lourds sur les échanges gazeux et la fluorescence des chlorophylles chez (Typha latifolia). Le septième chapitre (Part VII) est consacré à l'étude des microorganismes de la décharge d'Etueffont : apport de la cytométrie en flux. Dans le huitième chapitre (Part VIII), nous aborderons l'étude de la bioaccumulation des éléments traces métalliques dans le Chironome Chironomus riparius. La dernière partie (Part IX) intitulée « Étude de la bioaccumulation des éléments traces métalliques au niveau des différents organes du gardon Rutilus rutilus», aborde l'étude de la bioaccumulation des éléments traces métalliques au niveau de différents organes (muscle, foie, arêtes et branchies).

Mots clés : EMTs, déchets non dangereux, lixiviats, lagunage naturel, ISDND, piézomètres, gardon, chironome, cytométrie, ultra- et microplancton, , *Typha latifolia*.

Abstract

The objective of this thesis work is to estimate the contamination level in the various compartments of the Étueffont discharge site namely: leachates, sediments, groundwater, fishes and insects. The microorganisms (< 10 μ m) of the Étueffont discharge of were investigated at the single cell level by flow cytometry. This research work is structured in nine chapters.

The first part (Part I), is dedicated to a literature review. Part II presents the study site, the storage of non-hazardous waste (ISDND) at Étueffont. Part III is dedicated to the analysis of leachate quality in lagoons, NC, SC, AD, MB and GP. Part IV addresses "Metal Sediment Contamination of Étueffont discharge site" It concerns the study of spatial and temporal variation of trace metals in leachate and sediment in the four lagoons landfill site of Étueffont. To determine the metal contamination level in leachate and sediment, we conducted followelements located upstream, middle and downstream in each lagoon with quarterly sampling between October 2013 and April 2016. Part V complements the previous chapter, by specifically defining the spatial distribution of the plume through the quality analysis of the piezometer groundwater. Part VI addresses the heavy metals impacts on gas exchange and chlorophyll fluorescence in (Typha latifolia). Part VII is dedicated to the microorganisms (<10 µm) investigation in the Étueffont discharge: by using flow cytometry. In the (Part VIII), we addressed the study of bioaccumulation of trace metallic elements (Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Cd and Pb) in insect Chironomus riparius. Part IX entitled "Study bioaccumulation of trace metals in the various organs of roach Rutilus rutilus" concerns bioaccumulation of trace metals in different organs (muscle, liver, bones and gills) of this fish.

Keywords: traces metals, non-hazardous waste, leachate, natural lagoons, ISDND, piezometers, roach, chironomids, flow cytometry, ultraplankton, *Typha latifolia*.