



HAL
open science

Impact des micropolluants sur les communautés microbiennes en milieu estuarien

Sandrine Veloso

► **To cite this version:**

Sandrine Veloso. Impact des micropolluants sur les communautés microbiennes en milieu estuarien. Biologie moléculaire. Université de Pau et des Pays de l'Adour, 2021. Français. NNT : 2021PAUU3039 . tel-03917504

HAL Id: tel-03917504

<https://theses.hal.science/tel-03917504>

Submitted on 2 Jan 2023

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

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

THÈSE

UNIVERSITE DE PAU ET DES PAYS DE L'ADOUR
École doctorale 211 : Sciences Exactes et leurs Applications

Présentée et soutenue le 30 novembre 2021

par **Sandrine Veloso**

pour obtenir le grade de docteur de
l'Université de Pau et des Pays de l'Adour

**Spécialité : Physiologie et Biologie des Organismes – Populations -
Interactions**

IMPACT DES MICROPOLLUANTS SUR LES COMMUNAUTÉS MICROBIENNES EN MILIEU ESTUARIEN

MEMBRES DU JURY

RAPPORTEURS

- | | | |
|-------------------|-------------|--------------------------------------|
| • Frédéric Coulon | Professeur | Cranfield University, United Kingdom |
| • Fabienne Petit | Professeure | Université de Rouen Normandie |

EXAMINATEUR

- | | | |
|-------------------|----------|------|
| • Jennifer Hellal | Docteure | BRGM |
|-------------------|----------|------|

DIRECTEURS

- | | | |
|------------------|------------------------|--|
| • David Amouroux | Directeur de recherche | CNRS, Pau |
| • Robert Duran | Professeur | Université de Pau et des Pays de l'Adour |

CO-ENCADRANT

- | | | |
|----------------------|-----------------------|--|
| • Laurent Lancelleur | Maître de conférences | Université de Pau et des Pays de l'Adour |
|----------------------|-----------------------|--|



Remerciements

En premier lieu, je tiens particulièrement à remercier Frédéric Coulon, Professeur à l'université de Cranfield et Fabienne Petit, Professeure à l'Université de Rouen Normandie affiliée au laboratoire Morphodynamique Continentale et Côtière (M2C) d'avoir accepté l'invitation à examiner ce manuscrit et Jennifer Hellal, chercheuse au Bureau de recherches géologiques et minières (BRGM) pour avoir accepté d'être mon examinateur. Je remercie également mes directeurs de recherche, Robert Duran et David Amouroux ainsi que mon co-encadrant Laurent Lanceleur pour m'avoir initialement accordé leur confiance, merci aussi pour votre encadrement, vos corrections et implications.

Ce travail de thèse a été réalisé dans le cadre du projet MICROPOLIT, je tiens à remercier Mathilde Monperrus son investissement dans la création de ce projet, ainsi que les financeurs du dit projet : les Fonds européens de développement régional (FEDER) et l'Agence de l'Eau Adour-Garonne (AEAG).

Ce projet n'aura pu être sans la participation : Emmanuel Tessier, Jonathan Deborde, Laurent Lanceleur, Emna Zeghal, Mathilde Monperrus, Aurore Méré, Andrea Romero Ramas, Alyssa Azaroff, Aurore Gueux, Élodie Lacroix, Claudie Barnier et Claudia Marechan Mereno. D'un prélèvement à une filtration, chaque bras a compté parmi l'ensemble des campagnes d'échantillonnages jalonnant ce projet de thèse et chacun d'entre vous permis la concrétisation de ce projet. Merci à Benjamin Misson, François Rigal, Gary Fones, Tibor Benedek et Jennifer Hellal pour leurs nombreux conseils et leur participation à mes différents comités de thèse.

Je tiens tout particulière à remercier Emmanuel Tessier, merci pour ton soutien infini et ton apprentissage à chaque étape de cette thèse, y compris, les moins lumineux d'entre eux.

De même, je remercie Jonathan Deborde pour son travail, son investissement et ses conseils.

En grand merci pour Simon Godin, pour ces analyses en LC/MS/MS, ton accompagnement fut des plus enrichissants.

Merci à toutes l'équipe du CIMAV, à Antonia Velasco, pour t'être si bien occupé de moi et pour avoir fait preuve d'une incroyable écoute à mon égard, à Hilda Castillo pour avoir partagé sans limite ton expérience, tes connaissances et ton temps avec moi, à Mario, ton accompagnement quotidien et nos nombreuses discussions qui me permirent de découvrir à la fois le CIMAV, l'approfondir mes connaissances scientifiques et techniques,

tout autant que la ville de Chihuahua. Je tiens tout particulièrement à te remercier Sara Garcia Ruiz, ton accueil a été des plus remarquables, mais surtout merci à l'amitié et le soutien pour lesquels je te resterai bien longtemps redevable. Et plus particulièrement à Erasmo Orrantia Borunda, qui m'accorda sa confiance et me permit de vivre cette expérience et de découvrir ce merveilleux pays qu'est le Mexique.

Je tiens à remercier Gérald Grégori pour sa disponibilité, son temps et l'énergie dont il a fait preuve dans son enseignement à la cytométrie en flux (pour information, je pense que j'ai attrapé le virus). Dans les méandres des doutes, j'ai fréquemment eu la chance de profiter à la fois du savoir et de la bonhomie de Nicolas Tromas, je ne pourrai jamais te remercier autant pour tout ce que tu as fait pour moi.

Christian Tamburini, je te remercie, pour ta confiance et d'avoir fait que tout commence grâce à toi. De même, rien de tout cela n'aurait pu être concrétisé sans l'accueil de Yannick V. et Max L., merci à vous deux. Merci à Géraldine et Mickaël, pour l'heure aide quotidienne et leurs bienveillances. Merci à Cyril Noël pour ces conseils avisés, la bioinformatique est à chacune de nos échanges. Merci à tous ceux qui m'ont accompagné aux quotidiens, au sein de laboratoire comme à l'extérieur, Javier J, Nagore, Maria Carmen, Elise, Etienne, etc. Je tiens à remercier Cyril Noël pour ces nombreux conseils avisés.

Il me paraît évident que cette thèse n'aura pu se faire sans le soutien infaillible d'une multitude de personnes, dont Fish, Khaled, Alex, Charlotte, Loïc, Marie, Margaux, Tiago, Fanny, Emna, Sophie, Gabriel, etc.

Merci à ceux qui furent mes sauveurs, un grand merci à Luca, Nina, Cécile, Nicolas et mes chers parents. Vous étiez et restez ma force. Je tiens à dédier cette thèse, à tous qui furent à mes côtés au départ de ce projet et qui ne seront plus là pour en célébrer la fin.

Table des matières

Remerciements	3
Introduction générale	23
Liste des abréviations	27
1 Synthèse bibliographique	31
1.1 Les écosystèmes estuariens	31
1.1.1 Hydrologie & géographie	31
1.1.2 Ecologie estuarienne	37
1.1.3 Des zones littorales urbanisées	40
1.1.4 L'estuaire de l'Adour, de l'amont à l'aval, du bassin versant au tissu urbain	42
1.2 Dynamique de la contamination chimique en milieu estuarien urbanisé	52
1.2.1 Notion de micropolluant et de pollution émergente	52
1.2.2 Les éléments traces métalliques (ETM)	54
1.2.3 Les composés organométalliques	56
1.2.4 Les contaminants organiques	58
1.2.5 Aspects législatifs et réglementaires	78
1.3 Dynamique des communautés microbiennes en milieu estuarien	80
1.3.1 L'écologie microbienne et ses outils moléculaires	80
1.3.2 Les microorganismes, des acteurs clefs pour les écosystèmes aquatiques	84
1.3.3 Les communautés microbiennes en milieu estuarien	85

1.4	Interactions entre les contaminants et le compartiment microbien	95
1.4.1	La pollution : un facteur de stress pour les communautés microbiennes?	95
1.4.2	Notion de biodisponibilité environnementale	97
1.4.3	Différents niveaux d'impacts : de la cellule à la communauté	98
1.4.4	Types de réponse d'une communauté microbienne à une perturbation	99
1.4.5	Outils de mesure des perturbations au sein des communautés microbiennes	100
2	Matériel et méthodes	105
2.1	Site d'étude et stratégie d'échantillonnage	105
2.1.1	L'estuaire de l'Adour et sites de prélèvements	105
2.1.2	Les campagnes ADOUR	108
2.1.3	Méthodes de prélèvement et traitement des échantillons	110
2.2	Caractérisation des micropolluants dans l'estuaire de l'Adour	116
2.2.1	Analyses des ETM en ICP-MS	116
2.2.2	Détermination du mercure	118
2.2.3	Analyses des contaminants organiques	119
2.2.4	Analyses des résidus pharmaceutiques en LC-MS/MS	122
2.3	Caractérisation de la dynamique de matière organique	125
2.4	Caractérisation des communautés microbiennes par des méthodes de biologie moléculaire	127
2.4.1	Préparation des échantillons	127
2.4.2	Analyse de gène codant de l'ARNr 16S	128
2.4.3	Analyse de la diversité fonctionnelle : les puces à ADN (GeoChip)	136
2.4.4	Construction et analyse de réseaux microbiens	137
3	Distribution et dynamique des micropolluants chimiques prioritaires et émergents dans l'estuaire de l'Adour	139
3.1	Introduction	139
3.2	Profils de contamination en fonction de la position le long de la zone estuarienne	141
3.2.1	La zone urbaine, source majeure de contamination	142

3.2.2	Variation spatiale de l'amont à l'aval	147
3.2.3	Occurrence des contaminants dans le bas estuaire	148
3.3	Variabilité saisonnière et facteurs influençant les micropolluants chimiques	151
3.4	Synthèse des données et sélection des variables prédictives	157
3.5	Conclusion	160
4	Composition et structure des communautés microbiennes dans les sédiments de l'estuaire de l'Adour	163
4.1	Introduction	163
4.2	Article : <i>Microbial community structure in estuarine sediments exposed to geochemical gradients and micropollutants</i>	164
	ABSTRACT	165
	HIGHLIGHTS	166
4.2.1	Introduction	166
4.2.2	Material and Methods	168
4.2.3	Results and discussion	175
4.2.4	Conclusion	192
	Acknowledgements	193
	Data Availability Statement	193
4.2.5	References	194
	Supplementary materials	211
4.3	Conclusion	222
5	Structuration des communautés microbiennes dans l'eau de l'estuaire de l'Adour	223
5.1	Introduction	223
5.2	Richesse et diversité microbiennes observées dans les eaux estuariennes	225
5.2.1	Premier niveau de lecture : la diversité alpha	225
5.2.2	Composition des communautés microbiennes des deux fractions	229
5.3	Structuration des communautés dans l'estuaire de l'Adour	232

5.3.1	Influence de la saison et du tissu urbain dans la structuration des communautés microbiennes	232
5.3.2	Connectivité entre les modes de vie	236
5.4	Influence des paramètres environnementaux sur les communautés microbiennes	242
5.4.1	Variables disponibles pour la caractérisation des différentes fractions de la communauté microbienne de l'eau	242
5.4.2	Paramètres majoritaires influençant les communautés microbiennes	244
5.5	Diversité et structuration fonctionnelle des communautés microbiennes attachées aux particules	250
5.5.1	Diversité des fonctions observées	250
5.5.2	Influence de la position le long de l'estuaire et de la saison	253
5.6	Conclusion	255
6	Conclusion et perspectives	257
6.1	Les micropolluants dans l'estuaire de l'Adour	257
6.2	Structure et composition des communautés microbiennes	258
6.3	L'impact des micropolluants sur les communautés microbiennes	259
6.4	L'influence des STEU sur les communautés microbiennes	261
6.5	Les microorganismes : des bioindicateurs de l'état de santé des écosystèmes	261
6.6	Perspectives	263
Annexes		305
1	Annexe du chapitre 2.	305
2	Annexes du chapitre 3.	307
3	Annexes du chapitre 5.	319
4	Publications	323
5	Conférences	323
6	Autres communications	324
7	Résumé	326
8	Abstract	327

Table des figures

1.1	Classification géomorphologique des estuaires.	33
1.2	Classification des estuaires basées sur la structuration verticale de la salinité modifiée d'après VALLE-LEVINSON (2010).	35
1.3	Sectoriation idéale des estuaires d'après Perillo (1995).	36
1.4	Illustration de la variété de conditions pouvant résulter de stress naturel et anthropique d'après DAUVIN & RUELLET (2009).	38
1.5	Variation de la diversité (unité arbitraire) le long d'un gradient de salinité d'après VIDAL-DURÀ et al., 2018. Les zones colorés représentent les variations du macrobenthos selon le modèle de REMANE (1934) (d'après WHITFIELD et al., 2012 et SKARLATO & TELESH, 2017). Les pointillés identifient les variations des bactéries planctoniques (HERLEMANN et al., 2011) et des protistes pélagiques (TELESH et al., 2011).	39
1.6	Carte mondiale présentant les zones cotières (en gras) significativement impactées par les activités humaines d'après KENNISH et al., 2002.	41
1.7	Carte de la région hydrographique Adour et de ses cours d'eau majeurs, réalisée sous le logiciel QGIS.	43
1.8	Carte du registre parcellaire de 2012 de la région hydrographique Adour obtenue à partir de la base de donnée du Registre Parcellaire Graphique (RPG) et réalisée sous le logiciel QGIS.	44
1.9	Carte de la zone estuarienne de l'Adour, réalisée sous le logiciel QGIS.	45
1.10	Débit journalier (A) et débit mensuel moyen (B) de l'Adour par jour de janvier 2016 à décembre 2018 estimé d'après les données de la Banque HYDRO (cf. note page 45). Les lignes verticales continues et pointillées indiquent respectivement la moyenne et l'amplitude (minimum et maximum) du débit journalier moyen. Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type à la moyenne mensuelle.	46

1.11 Répartition des zones urbaines sur la région hydrographique de l'Adour, carte réalisée sous le logiciel QGIS	47
1.12 Sites pollués, établissement redevable de rejet et STEU sur la zone estuarienne de l'Adour. La STEU de Tarnos n'est pas visible sur cette représentation.	49
1.13 Structure moléculaire des PCB.	62
1.14 Arbre phylogénétique simplifié, basé sur les séquences d'ARN ribosomique , représentant les trois domaines du vivant d'après PACE (2006).	81
1.15 Frise chronologique des évènements majeurs constituant la révolution des NGS.	82
1.16 Schéma de la boucle microbienne telles que décrite par AZAM et al., 1983 (en noir), ainsi que les additions successives (en bleu) d'après FENCHEL (2008).	85
1.17 Schéma des phylums bactériens les plus fréquemment identifiés en milieu estuarien.	86
1.18 Schéma des phylums bactériens les plus fréquemment identifiés en milieu estuarien.	89
1.19 Illustration des limites employées dans la littérature scientifique afin de dissocier les microorganismes libres dans la colonne d'eau (en vert) et les microorganismes attachés aux particules (en rouge). Les lignes en pointillées indiquent qu'aucune limite supérieure à la fraction n'est précisée.	94
1.20 Illustration de l'impact potentiel d'une perturbation sur la composition d'une communauté microbienne et/ou les capacités écosystémiques d'après ALLISON & MARTINY (2008).	101
1.21 Représentation schématique de la diversité alpha (violet, vert ou bleu), bêta (pointillé noir) et gamma (gris) d'après ZINGER et al., 2012.	102
2.1 Carte de la localisation des sites d'échantillonnage le long de l'estuaire de l'Adour indiquant les sites de prélèvements d'eau (A) et les sites de prélèvements de sédiment (B).	106
2.2 Photographies des sites de prélèvements « Amont ». Les lettres S indiquent que les prélèvements sont de natures sédimentaires, et E qu'il s'agit de prélèvements d'eau.	107
2.3 Photographies des sites de prélèvements « Urbain ». Les lettres S indiquent que les prélèvements sont de natures sédimentaires, et E qu'il s'agit de prélèvements d'eau.	108
2.4 Débit fluvial estimé (en $m^3.s^{-1}$) d'après les données de la banque HYDRO (cf. note page 43) entre 2016 et 2018 (A) et en zoomant sur les trois périodes d'échantillonnages, AD1 au printemps (B), AD2 en été (C) et AD3 en hiver (D). En vert, rose et jaune sont respectivement indiqués les périodes d'échantillonnages des campagnes AD1, AD2 et AD3. Par un trait en gras et en pointillé, sont respectivement indiqués les valeurs moyennes et minimums/maximums du débit estimé en aval de la confluence (Adour et Nive).	109

2.5	Schéma du dispositif de filtration et de préparation des échantillons d'eaux (fraction totale et dissoute) (A) et la matière en suspension (MES) (B) pour l'analyse des ETM.	112
2.6	Schéma du dispositif de filtration et de préparation des échantillons d'eaux (fraction totale et dissoute) pour l'analyse des contaminants organiques par site.	113
2.7	Photographie légendée du dispositif de filtrations sur 3 et 0,22 μm des échantillons <i>in situ</i> les prélèvement microbiologiques des eaux.	115
2.8	Illustration des filtres de 3 μm de porosité (A) et des Sterivex TM (B).	127
2.9	Illustration de l'étape de lyse mécanique par vibrobroyage.	128
2.10	Représentation schématique des alternances de séquences conservées et hypervariables dans les gènes codant pour l'ARNr 16S. Les régions sont positionnées d'après leur emplacement le long de l'ADN 16S pour <i>Escherichia coli</i> d'après BROSIUS et al., 1978.	129
2.11	Carte de la localisation des sites conservés pour l'analyse fonctionnelle (Geochip) des communautés microbiennes.	137
3.1	Heatmaps des concentrations centrées réduites en contaminants organiques émergents dans les eaux pour dans les eaux brutes (A), la fraction dissoute (B) et les concentrations en résidus pharmaceutiques (C) dans les eaux pour la fraction dissoute.	143
3.2	Heatmaps des concentrations centrées réduites en contaminants organiques prioritaires et émergents dans les sédiments estuariens.	145
3.3	Concentrations (ng.L^{-1}) en antibiotiques dans la fraction dissoute des eaux de l'estuaire de l'Adour.	146
3.4	Concentrations ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) de séd.secs en antibiotiques dans les sédiments de l'estuaire de l'Adour. es antibiotiques dont la somme totale des concentrations est inférieure à 1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de séd.secs ont été exclus de cette représentation.	147
3.5	Boxplot des concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$) en métaux dans les sédiments en fonction du positionnement amont/aval. Les valeurs sont représentées en fonction de différentes gammes de concentrations allant de 0 à 10 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (A), de 0 à 60 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (B) et de 0 à 750 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (C).	148
3.6	Somme des concentrations (ng.L^{-1}) en HAP (A) et en PCB (B) dans l'eau de l'estuaire de l'Adour par site et par campagne.	149
3.7	Médiane et gamme des concentrations par catégorie par campagne dans les sédiments (A) et dans l'eau pour les fractions totale (B) ou dissoute (C).	152

3.8 ACP des micropolluants dans les **sédiments** de l'estuaire de l'Adour. Les variables indiquées par des abréviations correspondent à : l'antimoine (Sb), l'arsenic (As), l'étain (Sn), le nickel (Ni), le manganèse (Mn), le molybdène (Mo), le sélénium (Se), le zinc (Zn), TOC (pourcentage de carbone organique dans les sédiments), $\delta^{13}\text{C}$ (rapport des isotopes stables du carbone : $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) et C/N (rapport carbone/azote) sont des signatures des sources de la MO (matière organique), ils permettent de discriminer les sources de la MO et la fraction $< 50 \mu\text{m}$ correspond à la somme des pourcentages de la distribution granulométrique des classes de taille inférieures à $50 \mu\text{m}$, soit l'argile et le limon. Les métaux sont normalisés par la concentration en thorium. Les métaux et la fraction $< 50 \mu\text{m}$ (indicateur de la granulométrie) correspondent à la moyenne des triplicats par sites. 154

3.9 ACP des micropolluants dans les **eaux** de l'estuaire de l'Adour. Les variables indiquées par des abréviations correspondent à : l'antimoine (Sb), le cadmium (Cd), l'étain (Sn), le monométhylmercure (MMHg), le mercure inorganique (IHg), le molybdène (Mo), le thorium (Th), le zinc (Zn), la somme en polychlorobiphényles ($\sum\text{PCB}$), le célestolide (ADBI) le tonalide (AHTN), le galaxolide (HHCB), le galaxolide lactone (HHCB-L), le musc cétone (MK), octocrylène (OC), la somme en muscs ($\sum\text{muscs}$), la somme en pesticides ($\sum\text{pesticides}$), la somme des nonylphénols ($\sum\text{NP}$) soit la somme du nonylphénol (NP), du nonylphénol monoéthoxylé (NPEO1) et du nonylphénol diéthoxylé (NPEO2), la somme en alkylphénols ($\sum\text{AP}$), la somme en filtres UV ($\sum\text{UV}$), la somme des résidus pharmaceutiques ($\sum\text{pharmaceutiques}$), la concentration en matière en suspension (MES), la concentration en carbone total (TC), la somme de l'azote inorganique ($\sum\text{N}_{\text{inorganique}}$ correspondant à la somme des nitrates (NO_3^-), des nitrites (NO_2^-) et des ammoniums (NH_4^+), la silice dissoute ($\text{Si}(\text{OH})_4$), les sulfates (SO_4^{2-}), le rapport C/T, un indice de la fluorescence 2D de la matière organique dissoute chromophorique (CDOM). Pour ces analyses, les concentrations sont brutes (non normalisées et non moyennées par site). 155

3.10 Matrice de corrélation de Pearson des métaux corrigés par les concentrations en thorium (Th) dans les sédiments, avant (A) et après suppression des variables colinéaires (B). 157

3.11 Valeurs du **m-ERM-Q** obtenues pour les sédiments de l'estuaire de l'Adour. 159

4.1 **Sampling area and site location along the Adour Estuary.** Sites were identified by numbers and colors. Shapes indicated site position along the estuary, (■) upstream, (●) middle and (▲) downstream. 169

4.2 **Physico-chemical sites structuration.** Principal component analysis (PCA) plot for sites (A), distinct by sampling season and site position, and variables, (B) including metals (red), pharmaceuticals (purple) and geochemical parameters (blue) concentrations and abiotic parameters values (black). 176

- 4.3 **Microbial community composition.** Relative abundance (average of three replicates) of dominant microbial groups (phylum, class or order) observed by site and season in Adour Estuary sediment. NA, not assigned sequences; Other, groups not assigned sequences and taxa with abundance below 0.2% for phylums and classes and 1% for orders. 178
- 4.4 **Comparison of microbial community composition.** A) Hierarchical clustering based on Bray-Curtis dissimilarity computed on ASVs composition using the Ward D2 linkage method. The analysis was performed on the average of three replicates. The four groups were determined according to the explained inertia (83% with four groups). The seasons are identified by colours : spring (green), summer (pink) and winter (yellow). B) NMDS showing k-means clusters, based on the Bray-Curtis distances with samples pooled by site (without taking account to the season). 181
- 4.5 **Correlations between microbial community structures (genus level) with the environmental chemical parameters by canonical correspondence analysis (CCA).** The sites, the chemicals (arrows), and the ASVs at the genus level (grey points) are plotted. The bacterial genera discussed in the text are shown in red. 185
- 4.6 **Adour sediments microbial communities network analysis.** (A) Global network representation where each node corresponds to an ASV, node size is proportional to the node betweenness. Networks are colored according to phylum (A1) where NA designated not assigned sequences and Other, ASV not assigned sequences and phylums with abundance below 1% or (A2) modules, where modules significantly positively correlated with environmental parameters selected are identified in colors and Others designed nodes whom does not belong to these modules. (B) Heatmap of correlation between modules and environmental variables indicating Spearman correlation values (p-value). Only correlation with p-value higher or equal to 0.05 were represented. (C) Adour sediments microbial communities modules representation. Visualization of selected modules correlated to trimethoprim and oxolinic acid (C1), to Mn (C2) and to As (C3) illustrating ASVs within each module and their interactions. Each node corresponds to an ASV, node size is proportional to the node betweenness. Modules are identified by colors according to the legend in (A2). For a better resolution version of the Fig., see Fig. S2 for (A1) and (A2) and Fig. S3 for (C1), (C2) and (C3). 186
- S1 **Microbial diversity.** Rarefaction curve sediment samples sorted by sampling campaign. Colors and line style (solid, dashed or dotted) indicated respectively sampling site and site replica. 216

S2 **Global Adour sediments microbial communities network representation.** Each node corresponds to an ASV, node size is proportional to the node betweenness. Networks are colored according to phylum (A1) where NA designated not assigned sequences and Other, ASV not assigned sequences and phylums with abundance below 1% or (A2) modules, where modules significantly positively correlated with environmental parameters selected are identified in colors and Others designed nodes whom does not belong to these modules. 220

S3 **Adour sediments microbial communities modules representation.** Visualization of selected modules correlated to trimethoprim and oxolinic acid (C1), to Mn (C2) and to As (C3) illustrating ASVs within each module and theirs interactions. Each node corresponds to an ASV, node size is proportional to the node betweenness. Modules are identified by colors where module 1, 6, 15, 10, 8, 11, and 16 were respectively red, orange, pink, green, cyan, light blue and royal blue. 221

5.1 Mesure de diversité dans les communautés microbiennes associées aux particules (PA). Valeurs, moyenne (\pm écart-type), du nombre de séquences, de la richesse et des indices de diversité dans les échantillons (A), et représentation graphique (boxplot) de l'évolution des valeurs des indices de diversité le long de l'estuaire (B). 227

5.2 Mesure de diversité dans les communautés microbiennes libres dans la colonne d'eau (FL). Valeurs, moyenne (\pm écart-type), du nombre de séquences, de la richesse et des indices de diversité dans les échantillons (A), et représentation graphique (boxplot) de l'évolution des valeurs des indices de diversité le long de l'estuaire (B). 228

5.3 Abondance relative (%) des microorganismes attachés aux particules (A : PA) et des microorganismes libres dans la colonne d'eau (B : FL). Les sites correspondent à la moyenne de trois réplicats et les abondances ont été filtrées à 0,2% pour les phylums et 1% pour les groupes inférieurs aux phylums. 230

5.4 Abondance relative (%) des genres microbiens associable à l'écosystème marin dans les eaux de l'estuaire de l'Adour pour les fractions de microorganismes attachés aux particules (A : PA) et des microorganismes libres dans la colonne d'eau (B : FL). Les sites correspondent à la moyenne de trois réplicats. 231

- 5.5 **Communautés microbiennes associées aux particules (PA).** Dendrogramme (A) de la classification hiérarchique ascendante des sites (moyenne des réplicats) réalisé par la méthode des Ward sur les distances de Bray-Curtis mesurées à partir de la composition en ASV. Les quatre groupes ont été déterminés d'après l'évolution du pourcentage d'inertie expliquée (86% pour quatre groupes). Les saisons sont distinguées par des couleurs : printemps (vert), été (rose) et hiver (jaune). NMDS (B) basée sur la distance de Bray-Curtis des sites moyennés par saisons. Les groupements illustrés par les zones grisées sont définis par la méthode de classification des nuées dynamiques (k-means). Le site 6 présente une valeur de dissimilarité (Bray-Curtis) trop importante pour être représenté graphiquement, il a été exclu de cette représentation. 233
- 5.6 **Communautés microbiennes libres dans la colonne d'eau (FL).** NMDS basée sur la distance de Bray-Curtis des eaux de l'estuaire de l'Adour pour les fractions libres dans la colonne d'eau. Les groupements illustrés par les zones grisées sont définis par la méthode de classification des nuées dynamiques (k-means). 235
- 5.7 Partition et valeurs de la diversité bêta (indice de similitude de Jaccard β_{Jacc}) entre les différents modes de vie (PA et FL) au sein des eaux de l'estuaire de l'Adour et en fonction de la saison. 237
- 5.8 Réseau de co-occurrence des communautés microbiennes (FL+PA) de l'estuaire de l'Adour (A). Chaque nœud correspond à un ASV et la taille des nœuds est proportionnelle à la valeur de la centralité intermédiaire. En couleur, sont indiqués les modules composés d'au moins 5 nœuds. Le niveau taxonomique le plus précis est indiqué pour chaque nœud. Abondance relative (%) des ASV correspondants aux nœuds du module 1 (B) et du module 5 (C). 239
- 5.9 Heatmap de la corrélation de Pearson entre les différentes variables environnementales sélectionnées pour les différentes fractions attachées (A : PA) et libres dans la colonne d'eau (B : FL). La couleur et la taille des cercles sont proportionnelles au coefficient de corrélation de Pearson. 243
- 5.10 Réseau microbien de co-occurrence de la fraction PA (A) dans les eaux de l'estuaire de l'Adour. Chaque nœud correspond à un ASV et la taille des nœuds est proportionnelle à la valeur de la centralité intermédiaire. En couleur, sont indiqués les modules composés d'au moins 5 nœuds. Heatmap (B) de la corrélation de Spearman entre les modules et les paramètres environnementaux sélectionnés. Seules les corrélations présentant une p-value (indiquée entre parenthèses) supérieures ou égale à 0,05 sont représentées. 247

5.11 Réseau microbien de co-occurrence de la fraction FL (A) dans les eaux de l'estuaire de l'Adour. Chaque nœud correspond à un ASV et la taille des nœuds est proportionnelle à la valeur de la centralité intermédiaire. En couleur, sont indiqués les modules composés d'au moins 5 nœuds. Heatmap (B) de la corrélation de Spearman entre les modules et les paramètres environnementaux sélectionnés. Seules les corrélations présentant une p-value (indiquée entre parenthèses) supérieures ou égale à 0,05 sont représentées.	248
5.12 Abondances relatives des catégories et sous-catégories de gènes par site dans les eaux (fraction particulaire), obtenues à partir des analyses de Geochip (1/2).	251
5.13 Abondances relatives des catégories et sous-catégories de gènes par site dans les eaux (fraction particulaire), obtenues à partir des analyses de Geochip (2/2)	252
5.14 Heatmap de l'indice de dissimilarité (Bray-Curtis) entre sites calculée à partir du profil d'abondance des gènes détectés par les puces à ADN (geochip).	254
A2.1 Evolution de la salinité (A), de la température de l'eau (B) et du coefficient de marée (C) dans les eaux de l'estuaire de l'Adour au cours de l'échantillonnage. Les couleurs des bars de l'histogramme correspondent aux catégories de position des sites de prélèvement.	306
A3.1 Diagramme de Venn des catégories de substances ou substances quantifiées dans les sédiments (uniquement) ou dans l'eau (uniquement) ou les deux.	308
A2.2 Fréquence de quantification des contaminants chimiques pour les eaux brutes (A) et la fraction dissoute (B). Seuls les contaminants présentant une fréquence de quantification supérieure ou égale à 0,2 sont illustrés ici. Les couleurs indiquent la classe de contaminants à laquelle la substance est rattachée.	309
A2.3 Fréquence de détection des contaminants chimiques dans les sédiments . Seuls les contaminants présentant une fréquence de détection supérieure ou égale à 0,8 sont illustrés ici. Les couleurs indiquent la classe de contaminants à laquelle la substance est rattachée.	310
A2.4 Proportions relatives moyennes des classes granulométriques obtenues pour les sédiments de l'estuaire de l'Adour par saison. Ces représentations illustrent les moyennes et écart-type des classes de granulométriques par site (A) et les moyennes cumulées par site (B).	318
A5.1 Courbe de raréfaction pour les échantillons d'eau correspondant aux microorganismes attachés aux particules (PA).	319
A5.2 Courbe de raréfaction pour les échantillons d'eau correspondant aux microorganismes libres dans la colonne d'eau (FL).	320

A5.3 Concentrations en phosphate dissous (PO_4^{3-} en $\mu\text{mol.L}^{-1}$) dans l'estuaire de l'Adour. Les couleurs indiquées au dernier plan correspondent aux normes de la DCE décrites dans l'arrêté du 27/07/15. 321

A5.4 Concentrations en ammonium dissous (NH_4^+ en $\mu\text{mol.L}^{-1}$) dans l'estuaire de l'Adour. Les couleurs indiquées au dernier plan correspondent aux normes de la DCE décrites dans l'arrêté du 27/07/15. 321

A5.5 Concentrations en nitrite dissoute (NO_2^- en $\mu\text{mol.L}^{-1}$) dans l'estuaire de l'Adour. Les couleurs indiquées au dernier plan correspondent aux normes de la DCE décrites dans l'arrêté du 27/07/15. 322

Liste des tableaux

1.1	Classification des estuaires selon leur marnage.	34
1.2	Détails des STEU présentes le long de la zone estuarienne de l'Adour, de l'amont à l'aval d'après les informations fournies pour l'année 2018.	50
1.3	Evolution de la produits de substances chimiques (en million de tonnes) dans l'Union européenne (27 pays, excluant le Royaume-Uni) selon leur dangerosité de 2008 à 2020.	53
1.4	Description, réglementation et toxicité des métaux ciblés. Les couleurs pour le CE50 permettent de différencier les métaux dont la CE50 est inférieure à $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ (rouge), comprises entre 100 et $1\,000 \mu\text{g.L}^{-1}$ (orange), entre 1 001 et $100\,000 \mu\text{g.L}^{-1}$ (jaune) et supérieure à $100\,000 \mu\text{g.L}^{-1}$ (vert), le tout d'après Okamoto et al., 2015.	55
1.5	Propriétés physico-chimiques des HAP ciblés dans cette étude.	60
1.6	Propriétés physico-chimiques des filtres PCB ciblés dans cette étude.	63
1.7	Propriétés physico-chimiques des pesticides ciblés dans cette étude.	66
1.8	Propriétés physico-chimiques des filtres UV ciblés dans cette étude.	69
1.9	Propriétés physico-chimiques des muscs synthétiques ciblés dans cette étude.	71
1.10	Propriétés physico-chimiques des alkyphénols ciblés dans cette étude.	73
1.11	Propriétés physico-chimiques des résidus pharmaceutiques ciblés dans cette étude.	76
2.1	Détail des matrices prélevées pour chaque site. Les couleurs correspondent aux couleurs employées dans la figure 2.1, soit la carte de la localisation des sites de prélèvements.	108
2.2	Flaconnage employé pour les prélèvements d'eau et de son conditionnement	111
2.3	Conditions d'injections des échantillons pour les analyses des contaminants organiques en GC-MS.	121
2.4	Programmation du four du GC en fonction du type d'analyse et des matrices ciblées.	122

2.5	Paramètres mesurés et méthodes employées pour la caractérisation de la matière organique.	125
2.6	Caractéristiques des amorces utilisées pour le séquençage de l'ADN 16S.	130
2.7	Conditions de PCR par type d'échantillons.	131
2.8	Descriptif des outils et analyses statistiques.	135
3.1	Nombre de composés détectés et pourcentage (%) de détection par catégories de composés chimiques en fonction de leur position le long de la zone estuarienne et campagnes, toutes matrices confondues.	141
3.2	Caractérisation des contaminants disponibles dans les sédiments de surface de l'estuaire de l'Adour avec les ERL/ERM.	158
4.1	Contribution of environmental variables on the organisation of microbial communities by PERMANOVA based on Bray-Curtis index. Monte Carlo's level of significance (p) below 0.05 are indicated in bold. Only the most significant collinear variables ($\text{coefficient}_{\text{pear}} \geq 0.85 $) revealed by PERMANOVA are indicated.	183
S1	Abiotic and physico-chemical properties of Adour Estuary site sediments.	212
S2	Concentration profiles of metals in the sediment samples by season.	213
S3	Concentration profiles of metals in the sediment samples by estuarine position.	213
S4	Concentration profiles of pharmaceuticals in the sediment samples by season.	214
S5	Concentration profiles of pharmaceuticals in the sediment samples by estuarine position.	215
S6	Microbial diversity. Summary of Mi-Seq sequencing (mean \pm sd, per replicats) and alpha diversity indices per campaign of sediments samples.	217
S7	Microbial community composition. Relative abundance of <i>Bacteroidota</i> classes and orders (Class > Order) in Adour sediments. NA designed Not Assigned sequences.	218
S8	Characteristics of Adour sediments microbial communities network. Topological properties of empirical network MENs of microbial communities in Adour sediment and their associated random MENs.	219
5.1	Paramètres topologiques du réseau empirique et des réseaux aléatoires associés des communautés microbiennes des eaux (FL+PA) de l'estuaire de l'Adour.	238

5.2 PERMANOVA estimant la contribution relative des variables environnementales sur les communautés microbiennes attachées aux particules dans la colonne d'eau (PA) d'après l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis. Les valeurs représentent le ratio pseudo-F (F) et le niveau de significativité du test de permutation de Monte-Carlo (999 répétitions), les valeurs significatives sont indiquées en gras.	245
5.3 PERMANOVA estimant la contribution relative des variables environnementales sur les communautés microbiennes libres dans la colonne d'eau (FL) d'après l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis. Les valeurs représentent le ratio pseudo-F (F) et le niveau de significativité du test de permutation de Monte-Carlo (999 répétitions), les valeurs significatives sont indiquées en gras.	246
5.4 Pourcentage de gènes détectés par site et partagés entre sites dans l'eau de l'estuaire de l'Adour pour la fraction des microorganismes attachés aux particules (PA).	253
A3.1 Nombre de composés quantifiés et pourcentage (%) de quantification par catégories de composés chimiques, matrices et campagnes.	307
A2.2 Concentration en micropolluants dans les sédiments de l'estuaire de l'Adour. Les micropolluants dont les concentrations sont systématiquement inférieures à la limite de détection, LD, sont exclus. Lorsque la gamme de concentration dépassent l'une des seuils de référence de qualité, celui-ci est indiqué en gras.	311
A2.3 Concentration en micropolluants dans l' eau brute de l'estuaire de l'Adour. Les micropolluants dont les concentrations sont systématiquement inférieures à la limite de détection, LD, sont exclus de ce tableau.	314
A2.4 Concentrations en micropolluants dans les eaux de l'estuaire de l'Adour dans la fraction dissoute . Les micropolluants dont les concentrations sont systématiquement inférieures à la limite de détection, LD, sont exclus de ce tableau.	316
A5.1 Paramètres topologiques du réseau empirique et des réseaux aléatoires associés des communautés microbiennes des eaux (PA et FL) de l'estuaire de l'Adour.	322

Introduction générale

Le littoral est parmi les zones géographiques les plus fréquemment impactées par des activités humaines. Avec près de 40% de population mondiale vivant à moins des 100 km du rivage (KUMMU et al., 2016), ces zones sont soumises à des pressions démographiques ainsi qu'aux pressions issues des différentes activités associées à ces populations, qu'elles soient industrielles, urbaines et agricoles (KENNISH, 2002). La zone littorale comprend une multitude d'écosystèmes, dont les **estuaires**. Ces derniers sont des écosystèmes particulièrement **uniques** et **complexes**. Ce sont des **écotones**, soit, des zones de transition entre deux écosystèmes (ici le marin et le dulcicole). Ces écotones sont décrits comme productif et diversifié (VAN DER MAAREL, 1990) ils forment un gradient écosystémique entre deux écosystèmes jouxtant. Ils sont donc alimentés et influencés à la fois par les apports marins d'une part et ceux provenant du continent d'autre part. Ils sont donc particulièrement variables et complexes. Les estuaires forment ainsi, une **mosaïque d'habitats** et de **niches écologiques** qui se jouxtent et s'assemblent dans un **continuum interactif**. Les estuaires représentent des zones clefs d'un point de vue écologique, mais aussi pour les sociétés humaines. Ils rendent de nombreux **services écosystémiques** (COSTANZA et al., 2014), soit les bénéfiques que les écosystèmes naturels fournissent, directement ou indirectement, aux populations humaines (COSTANZA et al., 1997). Ces services écosystémiques peuvent être de multiples natures, comme la production de ressources alimentaires, la régulation du climat ou la pollinisation, mais aussi être moins tangibles, comme les services écosystémiques récréatifs ou culturels (MARTIN et al., 2020). En cela, les estuaires sont, entre autres, des **couloirs migratoires** et des **zones de refuges** et **nurseries** pour de nombreuses espèces à valeur économique et alimentaires (CABRAL et al., 2007; BULTEL et al., 2014; MORRICE et al., 2020; GUERREIRO et al., 2021), ce sont aussi des zones importantes d'activités et de loisirs (COSTANZA et al., 2014; MARTIN et al., 2020).

Or, comme la zone littorale en général, ils sont sujets à de nombreuses **pressions anthropiques** influençant et perturbant ces écosystèmes **sensibles**. Les influences anthropiques sur les écosystèmes peuvent prendre de multiple formes (physique, chimique, biologique), parmi elles, la **contamination et la perturbation chimique** fait l'objet d'une attention particulière. En effet, dans la seconde moitié du XX^{ème} siècle, différentes catastrophes environnementales (l'Amoco Cadiz en 1978, l'accident SEVESO en 1976, etc.) ont éveillé les consciences sur la dangerosité que pouvaient représenter la présence de contaminant dans les écosystèmes pour l'environnement et la santé humaine. Progressivement, une réglementation a été mise en place dans

le but de limiter et réguler la présence de contaminants dans les écosystèmes. Les diverses réglementations ont ciblé progressivement un nombre croissant de contaminants au fur et à mesure des progrès analytiques dans l'évaluation de leur toxicité et écotoxicité, de l'essor de la chimie de synthèse proposant de nouvelles molécules. **La mesure et l'étude de l'impact de la présence de contaminants reste une des problématiques clef pour la gestion et la protection des écosystèmes.** Afin de mesurer l'impact des contaminants sur les écosystèmes, il est essentiel de disposer d'outils permettant de rendre compte des effets environnementaux des contaminants sur le compartiment biotique. Différents organismes peuvent être pris en compte pour une étude d'impact. Dans le cadre de ce travail de thèse, nous nous sommes focalisés sur le **compartiment microbien**. Ce compartiment joue un rôle prépondérant dans l'équilibre des écosystèmes (AZAM et al., 1983 ; FENCHEL, 2008). Les microorganismes sont de véritables ingénieurs d'écosystèmes, essentiels à la **minéralisation de la matière organique** ainsi qu'aux **cycles biogéochimiques** (carbone, azote, phosphore, etc.). Ainsi, de nombreuses fonctions clefs des écosystèmes reposent sur ce compartiment. Leur sensibilité aux contaminants, leur temps de génération et leur versatilité métabolique face aux paramètres environnementaux, sont les propriétés des microorganismes montrant qu'ils représentent des **marqueurs potentiels de la contamination** (AGER et al., 2010 ; SUN et al., 2012 ; XU et al., 2014 ; AYLAGAS et al., 2017).

Néanmoins, l'utilisation des microorganismes pour évaluer l'état de santé des écosystèmes et de l'impact des micropolluants, nécessite d'étudier la composition et la dynamique des communautés microbiennes, notamment en milieu estuarien qui sont des écosystèmes dynamiques.

Ce projet de thèse s'inscrit dans le cadre du projet de recherche **MICROPOLIT** initié en 2016, conduit par l'UPPA (Université de Pau et des Pays de l'Adour) et porté par un consortium scientifique pluridisciplinaire. Il est financé par des fonds européens **FEDER**. Ce programme de recherche se focalise sur l'état et l'évolution de la qualité du milieu littoral Sud Aquitain. **MICROPOLIT** a pour objectif principal l'identification des micropolluants chimiques présents dans les environnements aquatiques, ainsi que leur dynamique, transfert et devenir dans le littoral basque, notamment au niveau de l'estuaire de l'Adour sur lequel se focalise les travaux de cette thèse.

L'**estuaire de l'Adour** est situé dans le bassin hydrographique Garonne-Adour dans le sud-ouest de la France, il prend sa source dans les Pyrénées et se déverse dans l'océan Atlantique au cœur du **golfe de Gascogne**. Dans sa partie la plus avale, l'estuaire de l'Adour est entouré de la zone urbaine de Bayonne-Biarritz-Anglet. Trois villes comptabilisant au total une centaine de milliers d'habitants et énormément d'activités : tourisme, pêche, industries, commerce portuaire, etc. A l'inverse, le bassin-versant de l'Adour est moins marqué par cette présence urbaine, mais l'exploitation agricole y est prononcée ainsi que l'élevage.

Les objectifs de ce mémoire de thèse sont de i) **caractériser et quantifier le profil** (niveau et occurrence) **de contamination dans l'estuaire de l'Adour et la variation saisonnière**, ii) **décrire la composition, la structuration et la variabilité saisonnière des communautés microbiennes de l'estuaire de l'Adour**, et finalement iii) **estimer l'impact potentiel de la présence de micropolluant sur les**

communautés microbiennes. Les profils de contaminants et la diversité microbienne ont été établis sur les matrices **aqueuses** (total, libre, voir particulaire) et **sédimentaires**.

Afin d'être le plus exhaustif possible sur le profil de contamination, de nombreux micropolluants ont été ciblés, ils appartiennent aux différentes catégories, telles que les **métaux**, les **hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)**, les **résidus pharmaceutiques**, les **pesticides**, les **muscs**, etc. De plus, la matière organique a été caractérisée afin d'obtenir une meilleure compréhension du fonctionnement de l'estuaire de l'Adour. A ce jour, très peu d'études ont été réalisées sur un panel aussi large de micropolluants et leur couplage avec la dynamique des communautés microbiennes.

Ce manuscrit s'articule autour de cinq chapitres, dont un présenté sous forme de publication rédigée en anglais. Le **premier chapitre** est une synthèse bibliographique, il expose succinctement :

- Les estuaires et l'écologie estuarienne ;
- La description plus spécifique de l'estuaire de l'Adour ;
- La définition, puis, plus spécifiquement la dynamique des micropolluants en milieu estuarien. Cette section restera focalisée sur les micropolluants pris en compte dans ces travaux de thèse ;
- Le rôle clef des microorganismes dans les environnements et l'avènement de l'écologie microbienne (et des techniques de séquençage à haut débit), et plus spécifiquement des microorganismes dans les milieux aquatiques ;
- Enfin, différents aspects et notions importantes pour la compréhension de l'interaction des micropolluants sur les communautés microbiennes.

Le **second chapitre** comprend la description des sites de prélèvements, des méthodes d'échantillonnage et l'ensemble des méthodes analytiques utilisées.

Le **troisième chapitre** présente les résultats obtenus pour la caractérisation du profil de contamination de l'estuaire de l'Adour et l'interprétation de la variabilité de ces profils de contamination en fonction des matrices (aqueuse et sédimentaire), en prenant en compte les variations saisonnières. Un succinct retour est réalisé sur la complexité de couplage de données de grand dimensionnement la nécessité de synthétiser, voir agglomérer, les données ou informations.

Le **quatrième chapitre** se focalise sur la structuration et le dynamisme spatio-temporel des communautés microbiennes dans les matrices sédimentaires.

Le **cinquième chapitre** décrit les communautés microbiennes sur les matrices aqueuses, avec une distinction entre les microorganismes libres de la colonne d'eau et ceux associés aux particules.

Le manuscrit se termine par une conclusion générale résumant les principaux résultats obtenus et proposant des perspectives d'études.

Liste des abréviations

ACE : *Abundance-based Coverage Estimators*

ACP : Analyse en Composantes Principales

ADN : Acide désoxyribonucléique

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien

ANME : Archées anaérobies méthanotrophes (*Anaerobic methanotrophic Archaea*)

ANOSIM : Analyse des similitudes (*Analysis of Similarities*)

APEO : Alkylphénols éthoxylés

ARN : Acide ribonucléique

ASV : Variant de séquence d'amplicon (*Amplicon Sequence Variant*)

BIX : Indice d'activité biologique (*Biological Index*)

BSA : Sérum d'Albumine Bovine

CAH : Classification ascendante hiérarchique

CCA : Analyse Canonique des Correspondance (*Canonical Correspondence Analysis*)

CDOM : Matière organique dissoute chromophorique (*Chromophoric Dissolved Organic Matter*)

Chla : Chlorophylle a

comammox : Oxydation complète de l'ammonium (*complete ammonia oxidation*)

DCE : Directive Cadre sur l'Eau

DIN : Azote inorganique dissous (*Dissolved Inorganic Nitrogen*)

DOC : Carbone organique dissous (*Dissolved Organic Carbon*)

DON : Azote organique dissous (*Dissolved Organic Nitrogen*)

DOP : Phosphore organique dissous (*Dissolved Organic Phosphorus*)

EEM : Matrice d'excitation-émission de fluorescence (*Excitation and Emission fluorescence - Matrix*)

EH : Equivalent habitants

ETM : Eléments traces métalliques

FIA : Analyse par injection en flux continu (*Flow Injection Analysis*)

FL : Microorganismes libres dans le colonne d'eau (*Free-living microorganisms*)

GC : Chromatographie en phase gazeuse (*Gas Chromatography*)

HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HIX : Indice d'humification (*Humication Index*)
IC : Carbone inorganique (*Inorganic Carbon*)
ICP : Inductively Coupled Plasma
IHg : Mercure inorganique
IRMS : Spectrométrie de masse à rapport isotopique (*Isotope-Ratio Mass Spectrometry*)
LD : Limite de détection
LQ : Limite de quantification en français
LOQ : Limite de quantification en anglais (*Limit of quantification*)
MENAP : *Molecular Ecology Network Analysis Pipeline*
MES : Matière en suspension
MO : Matière organique
MIT : (*Metal Inorganic Transport*)
MMHg : Monométhylmercure
MS : Spectromètre de masse (*Masse Spectrometer*)
NA : Non disponible (*Not Available*)
NGS : Séquence de nouvelle génération (*Next Generation Sequencing*)
NMDS : Positionnement multidimensionnel non métrique (*Non-metric Multidimensional Scaling*)
NQE : Norme de qualité environnementale
NQE-MA : Norme de Qualité Environnementale - concentration Moyenne Annuelle
NQE-CMA : Norme de Qualité Environnementale - Concentration Maximale Admissible
OSPAR : Convention Oslo Paris (*Oslo Paris Convention*)
OTU : Unité taxonomique opérationnelle (*Operational Taxonomic Units*)
PA : Microorganismes attachés aux particules (*Particule attached microorganisms*)
pb : Paire de bases
PCB : Polychlorobiphényles
PCR : Amplification en chaîne par polymérase (*Polymerase Chain Reaction*)
PERMANOVA : Analyse multivariée des variances par permutation (*Permutational analysis of variance*)
PES : Polyethersulfones
POC : Carbone organique particulaire (*Particulate Organic Carbon*)
POM : Matière organique particulaire (*Particulate Organic Matter*)
PON : Azote organique particulaire (*Particulate Organic Nitrogen*)
POP : Phosphore organique particulaire (*Particulate Organic Phosphorus*)
POP : Polluants Organiques Persistents
psu : Unité de salinité pratique
PTV : *Programmable Temperature Vaporization*

REACH : Enregistrement, évaluation et autorisation des produits chimiques

ROS : Espèces réactives de l'oxygène (*Reactive oxygen species*)

RPG : Registre parcellaire graphique

rpm : Rotation par minute

RUTP : Rejets Urbains par Temps de Pluie

RMT : Théorie des matrices aléatoires (*Random Matrix Theory*)

SNR : ratio signal sur bruit (*signal-to-noise ratio*)

SPE : Extraction sur phase solide (*Solide phase extraction*)

STEU : Station de traitements des eaux usées

SUVA : Absorbance spécifique aux rayonnements ultraviolets (*Specific Ultraviolet Absorbance*)

TAQ (polymérase) : ADN polymérase thermostables nommées d'après *Thermophilus aquaticus*

TC : Carbone total (*Total Carbon*)

UE : Union européenne (*European Union*)

Chapitre 1

Synthèse bibliographique

1.1 Les écosystèmes estuariens

1.1.1 Hydrologie & géographie

1.1.1.1 Définition des estuaires

L'une des premières définitions claires et reconnues des estuaires fut apportée par Pritchard en 1967 (PRITCHARD, 1967). Il y décrit les estuaires comme « constitué par une **masse d'eau confinée** ayant une **connexion libre** avec la mer ouverte et à l'intérieur duquel l'eau de mer est diluée d'une façon mesurable avec de l'eau douce issue du drainage du bassin versant ». Cette définition fut remodelée au fil des années et à de multiples reprises, en partie, car elle s'adaptait relativement mal à la description des estuaires situés dans l'hémisphère Sud.

Lesquels par des régimes hydrologiques et météorologiques plus contrastés que dans les zones tempérées ne pouvaient être pris en compte par cette définition. Une définition plus élargie et plus nuancée fut proposée par POTTER et al. (2010), ils y décrivent un estuaire comme **une masse d'eau semi-fermée présentant une connexion permanente ou périodique avec le milieu océanique et qui reçoit au moins périodiquement des apports d'eau douce d'un ou plusieurs fleuves** (POTTER et al., 2010). La salinité des eaux estuariennes est typiquement inférieure à celle du milieu marin et varie périodiquement et spatialement le long de l'estuaire. Au travers d'une simple définition et de son évolution transparaissent les notions d'**hétérogénéité** (spatiale comme temporelle) et de **complexité**, hautement caractéristiques de ces écosystèmes. Cette complexité inhérente aux estuaires s'est très vite caractérisée par un besoin de découper, classifier et schématiser ces systèmes afin d'en comprendre leur fonctionnement, leur structuration et de favoriser leur protection (ELLIOTT & MCLUSKY, 2002).

Face à cette nécessité de classer, on se retrouve face à la difficulté de définir un continuum. De nombreux auteurs se sont succédés proposant différentes classifications (DAVIES & MOSES, 1964; HAYES, 1979; PERILLO, 1995; HUME et al., 2007; VALLE-LEVINSON, 2010; MIKHAILOV & GORIN, 2012). Ces dernières peuvent reposer sur différents paramètres, elles peuvent être réalisées d'un point de vue physique (géomorphologie, apports d'eau douce ou l'évaporation) ou encore chimique (flux de nutriment ou salinité).

1.1.1.2 Structuration géographique et temporelle des estuaires

Une classification repose sur des définitions et limites franches. Or les écosystèmes naturels sont rarement compatibles avec ces concepts fixés. Les estuaires n'ont pas de réelles frontières, ils correspondent plutôt à des **continuum dynamiques**. On se propose ici de faire un retour sur une partie des différentes classifications établies pour décrire les estuaires. Chacune d'entre elles reflète la difficulté de description des estuaires et met en lumière différents paramètres primordiaux dans l'étude de ces écosystèmes.

1.1.1.2.1 Classification géomorphologique des estuaires

L'appellation « estuaire » est générique, elle prend en compte différents **géomorphotypes** (PRITCHARD, 1952; PERILLO, 1995; MIKHAILOV & GORIN, 2012). Une des premières classifications proposée pour les estuaires le fut de nouveau par Donald Pritchard (PRITCHARD, 1952). Celle-ci ne s'intéresse qu'à la description purement géomorphologique des estuaires et reste relativement large (PERILLO, 1995; HUME et al., 2007; MIKHAILOV & GORIN, 2012). Il y dissocie 3 catégories : les estuaires de plaines côtières, les estuaires à barre littorales (nommés aussi estuaires semi-fermés) et les fjords.

Les **estuaires de plaines côtières** ont été formés durant la dernière période glaciaire (Pléistocène), avec la fonte des glaces et l'élévation du niveau de la mer, l'eau de mer envahit les vallées des rivières de basses altitudes. C'est l'un des types d'estuaire les plus fréquents. L'estuaire de la Seine, la baie du Delaware ou l'estuaire de l'Adour sont des exemples classiques (Figure 1.1A).

Les **estuaires à « barre sédimentaires »** nommés bar-built en anglais ont été semi-cloisonnés par la formation d'une barre sableuse le long de la ligne de côte réduisant les échanges entre l'estuaire et le milieu marin. Ces estuaires tendent à s'enliser et leur profondeur est relativement faible. Par leur cloisonnement et leur profondeur, ils sont souvent confondus avec les lagons. La Laguna Madre (USA) et la Ria d'Aveiro en sont deux représentants (Figure 1.1B).

Les **fjords** sont d'anciennes vallées glaciaires façonnées par le mouvement des glaciers puis envahies par les eaux de mer. On les retrouve principalement aux abords des pôles, comme en Norvège, Islande et Alaska mais aussi en Antarctique, Chili ou Nouvelle Zélande. Ces vallées sont caractérisées par les versants hauts et escarpés et par une bathymétrie importante comme le Sognefjord (Norvège, profondeur de 1 308 m) (Figure 1.1C).

Pritchard lui-même revu rapidement ces catégories et en ajouta une quatrième, les **estuaires tectoniques** (PRITCHARD, 1960) (Figure 1.1D). Ces derniers sont formés à la suite de séismes ou de fractures de la croûte terrestres dans les régions adjacentes au milieu océanique, creusant un bassin qui s'il est rempli par une masse d'eau océanique peut conduire à la formation d'un estuaire. C'est le cas notamment de la baie de San Francisco (USA) ou la baie de Guaymas au Mexique.

Cette classification fut à de nombreuses occasions revue et étendue (HUME et al., 2007), parmi l'ensemble des catégories créées, on peut citer les **rias** (aussi nommés abers) (Figure 1.1E) qui présentent un débit fluvial très réduit, ce sont des vallées réellement noyées par les marées ou les **fjards** (Figure 1.1F) qui se distinguent des fjords par un relief plus faible.

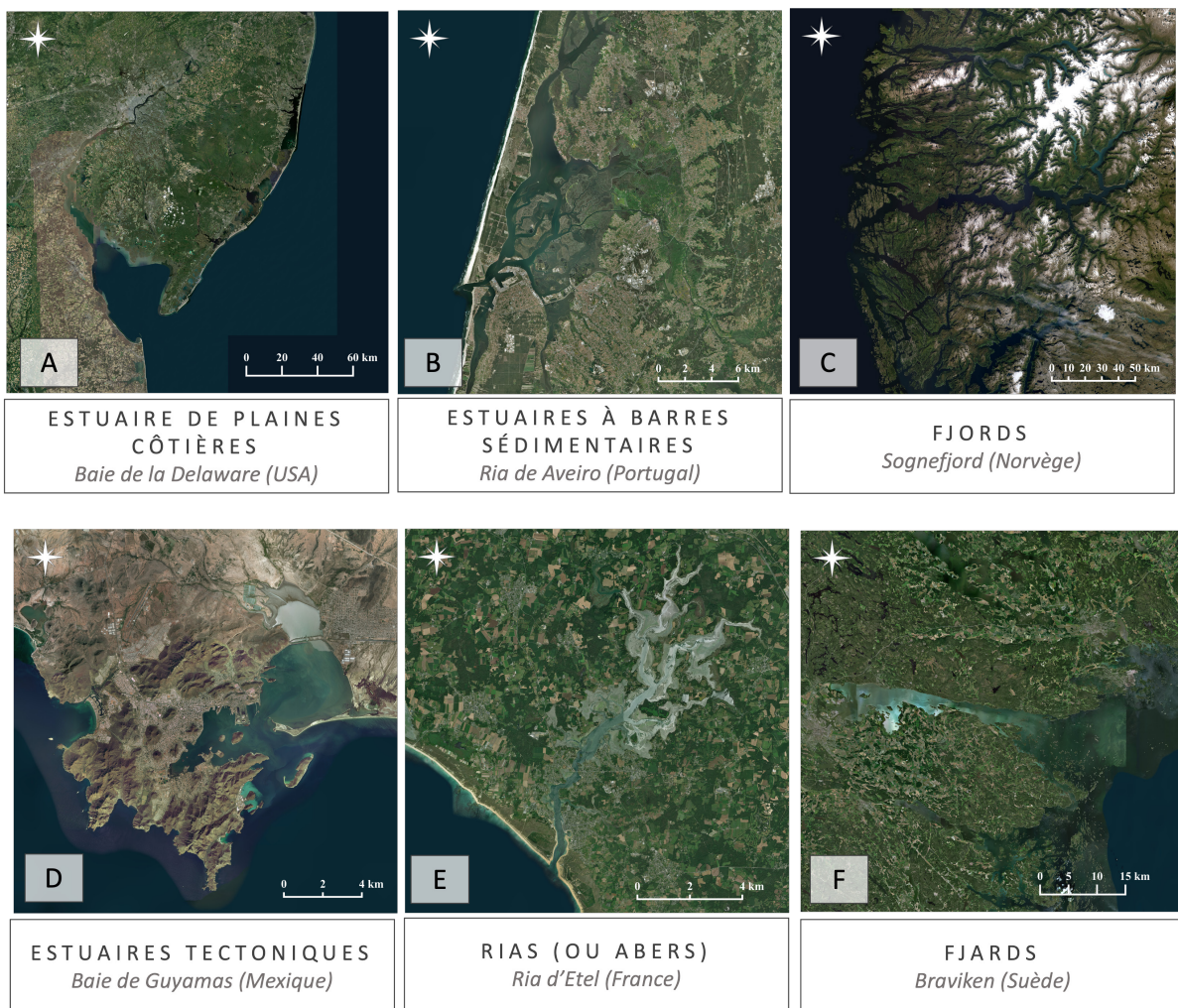


FIGURE 1.1 – Classification géomorphologique des estuaires.

1.1.1.2.2 Classification d'après l'ampleur de la marée

Cette première classification géomorphologique s'avère relativement complexe, de plus, elle ne permet pas une distinction fine entre deux estuaires qui peuvent présenter une géomorphologie identique mais correspondre à des écosystèmes très différents. Un second paramètre employé pour classer les estuaires est l'**ampleur moyenne du marnage**, soit l'amplitude de l'écart entre le point le plus haut et le plus bas lors d'un épisode de marée. On distingue ainsi 3 catégories (DAVIES & MOSES, 1964) détaillées dans le tableau 1.1.

TABLEAU 1.1 – Classification des estuaires selon leur marnage.

	Marnage (m)
D'après Davies (1964)	
Microtidal	0-2
Mésotidal	2-4
Macrotidal	> 4
D'après Hayes (1979)	
Microtidal	0-1
Faiblement mésotidal	1-2
Hautement mésotidal	2-3,5
Faiblement macrotidal	3,5-5
Macrotidal	> 5

La classification par Davies reste la plus simple et la plus fréquemment rencontrée. On peut néanmoins noter que (HAYES, 1979) étendit cette classification à 5 catégories (Tableau 1.1), très similaires aux premières mais introduisant les modèles estuariens intermédiaire faiblement mésotidaux (1-2 m), hautement mésotidaux (2-3,5 m) et faiblement macrotidaux (3,5-5 m) et en redéfinissant les limites des modèles microtidaux (< 1 m) et macrotidaux (> 5 m).

1.1.1.2.3 Structuration verticale des estuaires

La rencontre d'eaux fluviales et marines engendre la formation de gradients de salinité à la fois longitudinaux et verticaux. Les paramètres de ce gradient sont hautement variables d'un estuaire à l'autre c'est pourquoi une classification découla des différents modes de mélange entre les eaux douces et salées. On distinguera ainsi 4 modes majoritaires (VALLE-LEVINSON, 2010) (Figure 1.2) :

- (a) **partiellement mélangés**, cette structuration s'installe lorsque le débit fluvial est plus faible que les intrusions marines, néanmoins leurs deux courants sont assez importants pour provoquer une zone de turbulences à leur interface et mélanger les deux masses d'eau atténuant la stratification verticale.
- (b) **bien mélangés**, les courants marins sont bien supérieurs aux apports fluviaux, l'ensemble dans la colonne d'eau est alors bien mélangée et ne varie pas sur sa profondeur. Cependant, elle peut varier le long de l'estuaire, diminuant vers l'amont. La salinité variera alors en fonction de la saison et du débit amont.

- (c) les **estuaires à coin salé**, cette modalité s'installe lorsque le débit fluvial est plus important que la marée. L'eau douce légère s'écoulant en surface de l'eau saline dense, un gradient de salinité s'installe le long de la colonne d'eau. Comme dans le cas des estuaires partiellement mélangés, des turbulences vont provoquer un léger mélange à l'interface mais sans perturber la stratification. Les masses d'eau marines s'avancent sur le fond de l'estuaire vers l'amont jusqu'au point nodal où le courant marin de fond est arrêté. A ce point, le flux d'eau douce ne peut plus être compensé.
- (d) et les **estuaires fortement stratifiés**, cette structuration rappelle celle des estuaires partiellement mélangés, cependant dans cette modalité, les débits fluviaux sont plus importants que l'intrusion marine. Le débit fluvial étant plus marqué le courant de surface sera plus fort entrant une stratification plus marquée.

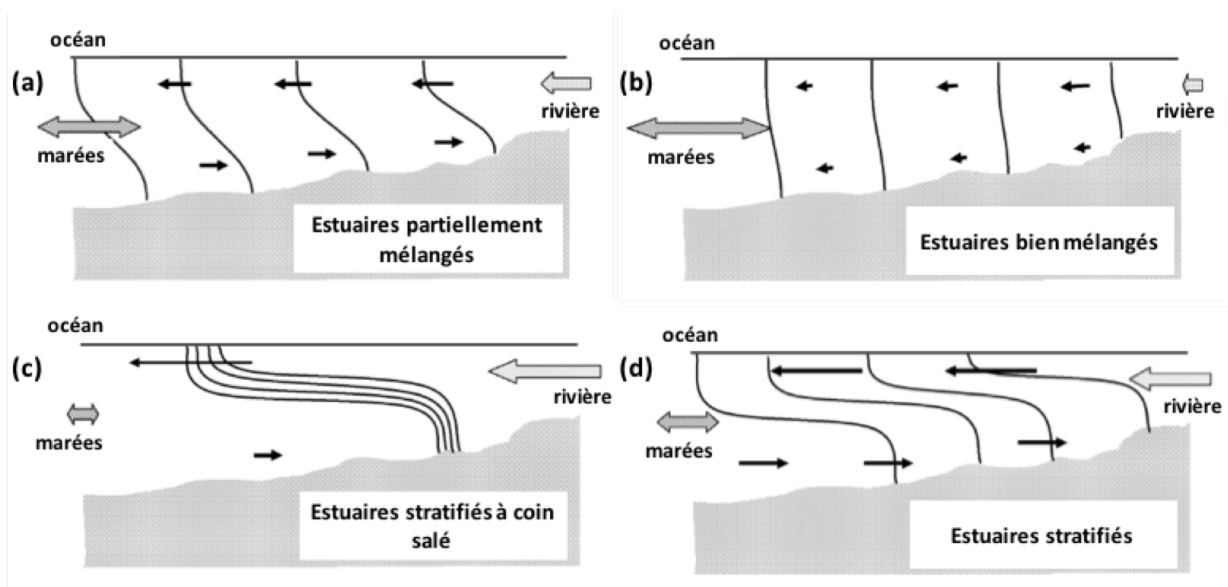


FIGURE 1.2 – Classification des estuaires basées sur la structuration verticale de la salinité modifiée d'après VALLE-LEVINSON (2010).

1.1.1.2.4 Sectorisation des estuaires : inférieur, moyen et supérieur

Un estuaire représente un gradient entre deux biomes, aucune limite franche n'existe entre l'estuaire et le milieu marin ou dulcicole. En amont, deux critères sont fréquemment utilisés pour définir des limites aux estuaires :

- la **limite d'intrusion marine** soit la limite à laquelle la salinité des eaux est supérieure à celles de milieu dulcicole
- et la **limite de marée dynamique** soit la distance maximale de pénétration de l'onde de la marée. En aval, c'est la limite de présence d'eaux saumâtres qui permet de délimiter l'estuaire, cette limite traduisant directement à la limite maximale de l'influence des eaux douces.

On définit classiquement 3 grands secteurs : **l'haut estuaire**, **l'estuaire moyen** et **le bas estuaire** (Figure 1.3) (DIONNE, 1963 ; PERILLO, 1995).

Ces secteurs sont basés sur les limites précédemment mentionnées ainsi que le système de Venise pour la classification des eaux saumâtres (« The Venice System for the Classification of Marine Waters According to Salinity », 1958). La zone s'étendant entre la limite d'intrusion saline et de marée dynamique correspond au haut estuaire, aussi appelé estuaire fluvial. Avec une salinité moyenne inférieure à 0,5 psu (unité de salinité pratique), elle est qualifiée de limnétique. L'estuaire moyen correspond lui à la zone de mélange entre le milieu fluvial et marin. Ce secteur s'étend de la limite d'intrusion saline à une limite basse définie par une salinité avoisinant les 18 psu, soit la limite entre les zones mésohaline et polyhaline. S'ensuit le bas estuaire, nommé régulièrement estuaire marin, qui correspond à la partie la plus proximale de l'estuaire. La dominance marine y est majoritaire, il est caractérisé par une salinité supérieure à 18 psu et s'étend jusqu'à l'embouchure de l'estuaire.

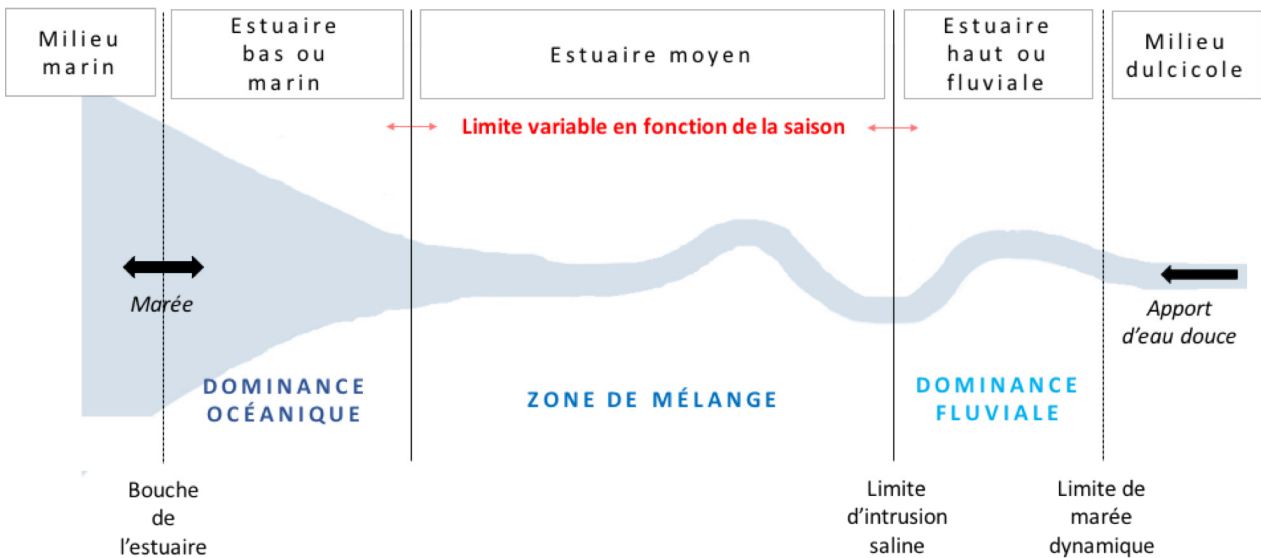


FIGURE 1.3 – Sectoriation idéale des estuaires d'après Perillo (1995).

Il est possible de subdiviser ces secteurs en portions plus fines, ce qui fut d'ailleurs proposé par (MCLUSKY, 1993) qui se basa de nouveau sur le système de Venise (« The Venice System for the Classification of Marine Waters According to Salinity », 1958) (Figure 1.3). Ainsi, l'estuaire moyen sera scindé en 2 parties à la salinité de 5 psu. Ces divisions sont nommées « upper » et « inner » correspondant respectivement aux milieux oligohalin et mésohalin. Quant au bas estuaire, il sera lui aussi subdivisé en 2 parties, le « middle » et « lower », séparés cette fois par une salinité de 25 psu. Ici, l'auteur a directement subdivisé le milieu polyhalin en deux. La position des limites citées ici va par définition variée énormément en fonction du rythme des marées, du régime fluvial et donc de la saison, elles ne sont d'ailleurs jamais fixées. Comme on vient de voir, définir les estuaires ou bien les classer, bien qu'évidente en apparence, s'avère une tâche bien

plus complexe. Cela met clairement en évidence la complexité inhérente à ces écosystèmes, ce qui en fait des zones d'études de grand intérêt.

1.1.2 Ecologie estuarienne

1.1.2.1 Généralités

Les estuaires sont des environnements complexes et uniques, d'un point vu physico-chimique comme biologique. Ce sont des zones de transition entre deux écosystèmes (marin et dulcicole) aussi appelés en écologie, des **écotones**. Ces écotones sont décrits comme caractérisés par leurs importantes **productivité** et **biodiversité** (VAN DER MAAREL, 1990).

Les estuaires, et écotones en général, bénéficient d'apports nutritifs provenant des écosystèmes joutant. Dans le cas des estuaires, les rivières seront sources d'azote (N) principalement sous la forme de nitrates (NO_3^-), un élément à la fois fréquemment limitant en milieu marin (MOORE et al., 2013) et inversement occasionnellement responsable de l'eutrophisation des écosystèmes en milieu dulcicole et/ou estuarien (KELLY et al., 2021). L'azote, entrant dans la composition des protéines et des acides nucléiques, est précisément limitant en milieu marin pour le phytoplancton, or ce groupe est situé à la base de réseaux trophiques en milieu marin, sa limitation présente ainsi des répercussions sur l'ensemble du système. Le milieu dulcicole peut encore être source d'autres éléments comme le phosphore (P), surtout si une activité agricole s'installe à l'amont. A l'inverse, le milieu marin est une source de silice (Si), magnésium (Mg) ou potassium (K). Les bénéfices apportés pour les écosystèmes environnants ne sont pas uniquement sous la forme de substance chimique. Leur action prend de multiples facettes, qui peuvent être de nature biologique ou encore hydrologique.

La production primaire estuarienne est fréquemment renforcée par l'apport nutritif amont mais aussi par la remise en suspension d'éléments nutritifs sous l'action des courants de marée. Ces apports sont eux aussi sous le joug d'une importante variabilité temporelle. Ils peuvent varier à l'échelle de la journée (p. ex. avec le coefficient de marée), du mois, de l'année voir plus encore (SHARP et al., 1986 ; ASMALA et al., 2016).

Par la présence simultanée d'espèces issues des deux écosystèmes adjacents et d'espèces endémiques à l'estuaire, on observe théoriquement une **richesse biologique spécifique** importante en milieu estuarien. Ce sont également des **couloirs migratoires** pour de nombreuses espèces appartenant par exemple au pelagos (BULTEL et al., 2014 ; MORRICE et al., 2020) ou encore au benthos (NICHOLS & THOMPSON, 1985 ; EGGLESTON et al., 2015). Les estuaires tiennent aussi lieu de **nourricerie** et de **refuge** (CABRAL et al., 2007 ; ROBINS et al., 2016 ; GUERREIRO et al., 2021).

La valeur écologique de ces écosystèmes réside aussi dans la diversité d'habitats et de niches écologiques qu'ils abritent. Les estuaires forment en réalité des sous-unités d'habitat qui se joutent et s'assemblent dans une mosaïque interactive. Les variabilités des paramètres physico-chimiques et biologiques en liens étroits

avec les écosystèmes maritime et dulcicole vont façonner cette mosaïque estuarienne. Ainsi un estuaire est un **continuum d'assemblages** qui rendront chaque estuaire unique.

1.1.2.2 Le « Paradoxe Estuarien » : ‘Estuarine Quality Paradox’

Comme l’illustre la difficulté de classification des estuaires déjà abordée, nous sommes confrontés ici à des écosystèmes hautement hétérogènes dans le temps et dans l’espace. Ils sont d’ailleurs fréquemment qualifiés de « naturellement stressés ». De surcroît comme de nombreuses zones littorales, ce sont des écosystèmes fortement impactés par les activités anthropiques. M. Elliott et V. Quintino introduisirent la notion de **paradoxe estuarien** (*Estuarine Quality Paradox*), correspondant à la difficulté d’identifié la part de la variabilité naturelle dû aux caractéristiques estuariennes de celle induit par les activités anthropiques (ELLIOTT & QUINTINO, 2007; DAUVIN, 2007). DAUVIN & RUELLET (2009) démontrèrent qu’en prenant uniquement 4 paramètres environnementaux qui régissent fréquemment les estuaires, nous pouvions aboutir 180 conditions environnementales distinctes. Lorsqu’ils y ajoutèrent 4 autres paramètres “anthropiques”, ils ont abouti à un nombre total de 27 000 conditions (Figure 1.4).

STRESS NATURELS			
Salinité	Substrat	Hydrodynamisme	Position sur l'estran
Euhaline Polyhaline Mesohaline Oligohaline Dulcicole	Argile / Vase Sable Galets Mur	Important Modéré Faible	Intertidal Subtidal peu profond
5 conditions	4 x 5 = 20 conditions	3 x 20 = 60 conditions	3 x 60 = 180 conditions
Suffisant Insuffisant	Aucune Extraction Dépôts	Haute Bonne Modérée Faible Mauvaise	Haute Bonne Modérée Faible Mauvaise
2 x 180 = 360 conditions	3 x 360 = 1080 conditions	5 x 1080 = 5400 conditions	5 x 5400 = 27000 conditions
Oxygénation	Activité de draguage	Contamination chimique	Nutriments
ACTIVITES HUMAINES			

FIGURE 1.4 – Illustration de la variété de conditions pouvant résulter de stress naturel et anthropique d’après DAUVIN & RUELLET (2009).

Toutes ces conditions ne se retrouvent pas forcément en milieu naturel et cette approche reste une évaluation théorique des potentielles combinaisons de conditions pouvant être retrouvées en milieu estuarien stressé. Cette représentation illustre l’hétérogénéité inhérente à cet écosystème et la difficulté de dissocier la nature des stress influençant ces écosystèmes.

1.1.2.3 Ecologie estuarienne & le compartiment microbien

En 1934, il fut proposé un modèle conceptuel appelé **Diagramme de Remane** permettant de décrire les variations du **macrobenthos** dans les estuaires (REMANE, 1934). Il est basé sur la variation de la richesse spécifique le long d'un gradient de salinité.

Il y distingue 3 grands compartiments : les espèces dulcicoles, marines et estuariennes.

Ce modèle fut rapidement employé et modifié afin de décrire et étudier différentes **communautés microbiennes** colonisant des continuums salins (TELESH et al., 2011 ; WHITFIELD et al., 2012). On y observe classiquement la décroissance des espèces dulcicoles avec l'augmentation de la salinité (grossièrement entre 0 et 5 psu) et inversement l'augmentation du nombre d'espèces marines (à partir de 10 à 35 psu). Les espèces estuariennes sembleraient présenter une abondance relativement constante de 3-4 à 30 psu (WHITFIELD et al., 2012). Néanmoins, la zone allant de 5 à 8 psu correspond théoriquement à l'écotone estuarien au sens le plus strict (Figure 1.5).

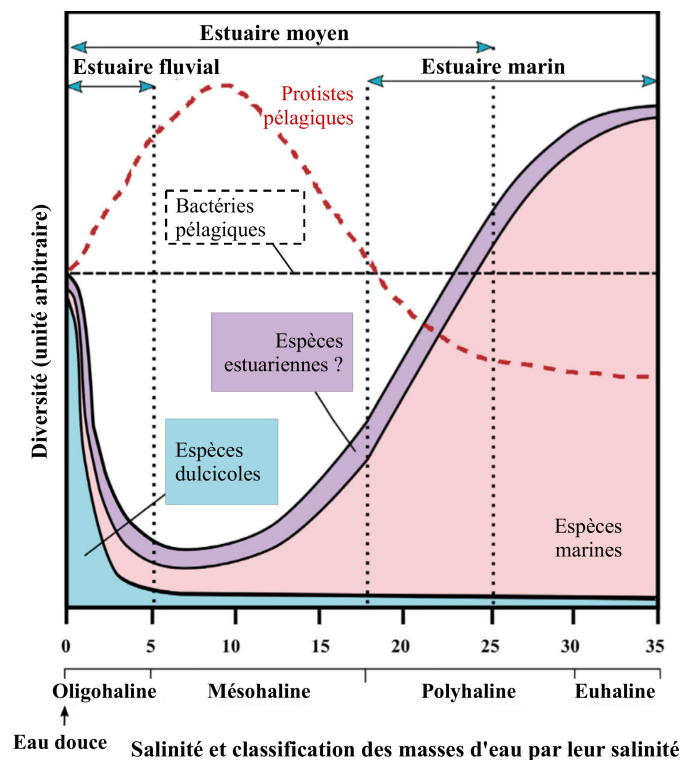


FIGURE 1.5 – Variation de la diversité (unité arbitraire) le long d'un gradient de salinité d'après VIDAL-DURÀ et al., 2018. Les zones colorées représentent les variations du macrobenthos selon le modèle de REMANE (1934) (d'après WHITFIELD et al., 2012 et SKARLATO & TELESH, 2017). Les pointillés identifient les variations des bactéries planctoniques (HERLEMANN et al., 2011) et des protistes pélagiques (TELESH et al., 2011).

Suite à l'emploi de ce modèle conceptuel (Diagramme de Remane) sur les communautés microbiennes, les résultats obtenus présentèrent un profil assez remarquable puisque les communautés bactériennes pélagiques sembleraient présenter une abondance constante le long du gradient salin (HERLEMANN et al., 2011 ; VIDAL-

DURÀ et al., 2018), sans être influencées par les variations de salinité. De plus, la zone de salinité 5-8 psu qui est une zone critique pour la majorité des espèces semble représenter pour les unicellulaires eucaryotiques une réelle niche écologique (Figure 1.5) (TELESH et al., 2011; TELESH et al., 2013; VIDAL-DURÀ et al., 2018).

Au-delà de l'abondance, d'une part certains auteurs observent une biodiversité qui serait le résultat d'un mélange de communautés microbiennes dulcicoles et marines, la communauté microbienne n'ayant pas le temps de s'adapter et de développer un assemblage estuarien (en lien avec les faibles temps de résidence des masses d'eau) (CRUMP et al., 1999; TROUSSELLIER et al., 2002). Tandis que d'autres tendent plutôt à démontrer qu'ils sont en présence d'un assemblage estuarien spécifique (GOÑI-URRIZA et al., 2007).

Ces observations bien que bien qu'assez contradictoires illustrent le fait possède un dynamisme et des caractéristiques abiotiques qui lui sont propres. Ainsi, la mise en place de l'un ou l'autre de ces types de communautés estuariennes pourrait plus simplement être fonction de la nature de l'estuaire mais aussi de la période de l'année.

1.1.2.4 Les services écosystémiques des zones estuariennes

Les zones estuariennes sont d'une importance capitale pour les écosystèmes marins côtiers. La forte productivité de ces zones en fait des écosystèmes d'intérêt majeur pour l'environnement mais aussi pour l'économie mondiale. Les services écosystémiques fournis par les estuaires représenteraient en 2011 plus de **24 900 €·ha⁻¹·an⁻¹** (COSTANZA et al., 2014).

Ces écosystèmes joueraient un rôle clefs dans le cycle des nutriments (N et P surtout), la production de ressources alimentaires (pour les populations humaines), les loisirs, les activités culturelles et en tant que zone de refuge (COSTANZA et al., 2014; MARTIN et al., 2020).

1.1.3 Des zones littorales urbanisées

Depuis plusieurs siècles, les zones aquatiques exercent une très forte attractivité sur les populations humaines. En 2016, il a été estimé de près de 14 des 20 villes les plus peuplées mondialement se trouvaient dans des zones littorales ou à proximité et près de 10 d'entre elles sont situées à proximité des zones estuariennes (UNITED NATIONS, 2016). Ce schéma est assez cohérent, ces écosystèmes représentent des voies de navigation favorable au commerce et à l'industrie et jouent (et jouèrent) un rôle conséquent dans le développement économique de mégalo-poles.

Bien évidemment, l'importante démographie et la présence de mégalo-poles le long des zones côtières n'est pas sans effet sur les écosystèmes naturels. Une partie non négligeable des littoraux sont effectivement impactés par les activités humaines (Figure 1.6) (KENNISH, 2002).

Ces impacts peuvent prendre des formes multiples et variées. On peut citer parmi les menaces principales :

- (a) **L'artificialisation du littoral** ; elle est à l'origine de la disparition d'habitat ou la modification de l'équilibre physico-chimique des littoraux. Elle est observable, par exemple, lors de la chenalisation des estuaires ou la perturbation des courants côtiers par la modification du fond (ensablement).
- (b) **La pollution chimique** ; des composés chimiques issus de ressources naturelles (métaux, etc) aussi bien que les produits industriels de synthèse (xénobiotiques : pesticides, PCB, etc.) peuvent se retrouver dans les milieux aquatiques. Ils transitent notamment par les zones estuariennes avant de se retrouver au sein des littoraux. Face à la diversité de composés émis, il est actuellement difficile d'estimer les effets d'une telle contamination. Néanmoins elle va généralement de pair avec le déclin de la qualité des eaux et du fonctionnement écologiques des milieux.
- (c) **Le changement climatique** ; pour les zones littorales, on peut s'attendre à deux répercussions majeures : l'augmentation de la température de l'eau et élévation du niveau de la mer (ROBINS et al., 2016; IPCC, 2019; KHOJASTEH et al., 2021). A cela peut s'ajouter des phénomènes d'érosion du littoral ou de salinisation (IPCC, 2019). Dans le cas précis des estuaires, c'est l'intégrité de l'équilibre hydrodynamique et donc écologique des estuaires qui est menacée (KHOJASTEH et al., 2021).

Bien évidemment, ces menaces s'exacerbent les unes, les autres (IPCC, 2019). Le changement climatique et la pression anthropique sont inextricablement emboîtés et n'ont de cesse de s'accroître mutuellement. Ce qui rend l'interprétation de leurs conséquences bien plus complexe (IPCC, 2019).

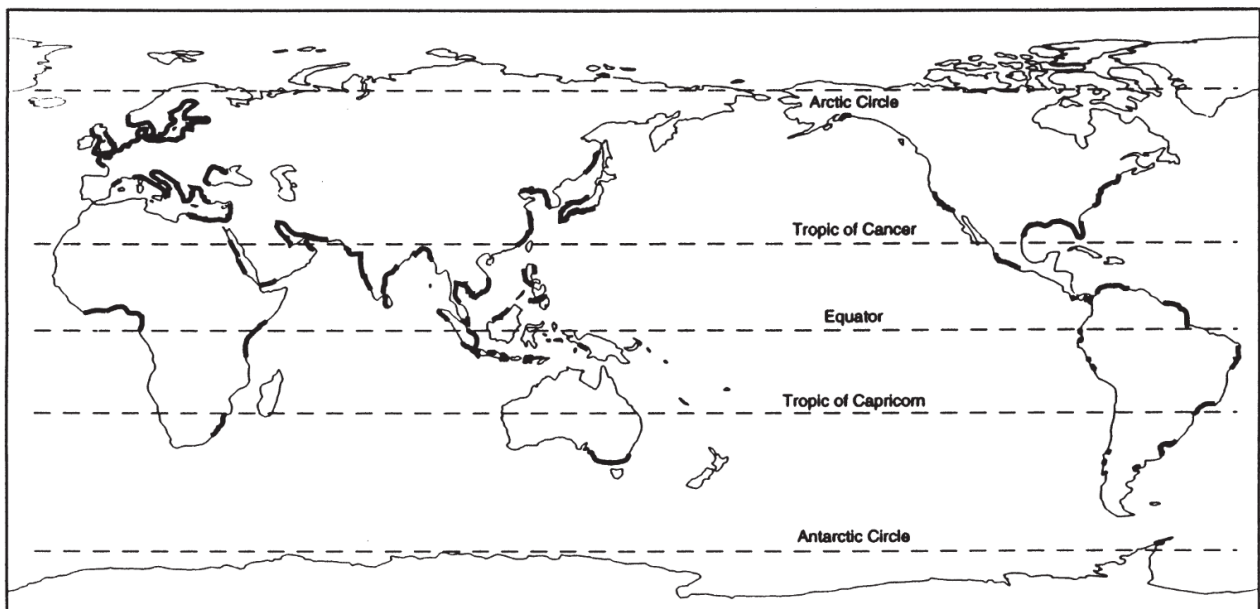


FIGURE 1.6 – Carte mondiale présentant les zones côtières (en **gras**) significativement impactées par les activités humaines d'après KENNISH et al., 2002.

Les estuaires sont des écosystèmes clefs pour l'identification des pressions anthropiques s'exerçant sur les milieux littoraux et côtiers. Ils représentent une des voies d'entrée principale des contaminants dans ces derniers, tout en étant eux même des environnements naturellement complexes et sensibles aux perturbations. Grâce à cette sensibilité et aux pressions importantes auxquelles ils sont sujets, ces écosystèmes peuvent servir de modèle dans le diagnostic et le suivi de l'impact des pressions anthropiques sur la santé des écosystèmes. Ce travail de thèse emploie comme support d'étude l'estuaire de l'Adour situés au Sud-Ouest de la France. Nous nous focaliserons majoritairement en terme de pression anthropique sur la pollution chimique et plus précisément les micropolluants.

1.1.4 L'estuaire de l'Adour, de l'amont à l'aval, du bassin versant au tissu urbain

1.1.4.1 Hydrologie du bassin versant

Le fleuve Adour, long de 335 km, prend sa source au pic de Midi de Bigorre dans les Pyrénées-Atlantiques françaises et se jette dans le Golfe de Gascogne (Atlantique) au niveau de la ville d'Anglet. Le bassin versant de l'Adour s'étend sur près de 16 880 km² (Figure 1.7).

Les principaux cours d'eau alimentant ce bassin versant sont l'Adour formé de l'union des 3 branches fondatrices, l'Adour De Payolle, l'Adour de Gripp et l'Adour de Lesponnes, s'ensuit l'Arros (1 283 km²), la Midouze (3 590 km²), le Luy (1 150 km²), les gaves réunis (Gaves de Pau et d'Oloron) (5 200 km²) et la Nive (1 030 km²) (Figure 1.7).

L'Adour s'écoule jusqu'à son embouchure à Anglet, s'ouvrant d'une part et d'autres sur les plages sablonneuses des landes et la côte basque.

Ces cours d'eau prennent majoritairement leur source dans Pyrénées-Atlantiques, ainsi, ils sont majoritairement sous un **régime pluvio-nival**, un régime hydrologique simple alimenté par la fonte des neiges au printemps et des précipitations en automne et en hiver. Ce type de régime fluvial est caractérisé par des crues en hiver et surtout printemps et une période d'étiage prononcé en été (d'août à septembre).

Le bassin versant de l'Adour présente une activité agricole prononcée (Figure 1.8), elle concerne surtout la culture du maïs, celle des oléagineux comme le colza et le tournesol, et le blé tendre dans le nord-est de la région hydrographique notamment. Ponctuellement, on retrouve aussi des vignes et des cultures de semence. L'agriculture possède un effet non négligeable sur les écosystèmes aquatiques, par la modification des flux de matière ou encore par l'apport de contaminants anthropogénique tels que les pesticides et autres produits phytosanitaires. La perturbation des flux de matière peut être liée à l'apport d'azote et/ou de phosphore, deux éléments constituant majoritaire des engrais (ELSER, 2012; FOWLER et al., 2013).

Le bassin versant de l'Adour présente d'ailleurs ponctuellement des concentrations importantes en phosphore, notamment en période de pluies (BRUNET & ASTIN, 1999) via le lessivage des sols. L'ensemble du bassin hydrographique Garonne-Adour présente une pression importante en pesticides principalement en herbicides dont le S-Métolachlore, l'AMPA (produit de dégradation de glyphosate) et l'atrazine déséthyl (produit de dégradation de l'atrazine) (INSTITUTION ADOUR, 2015).

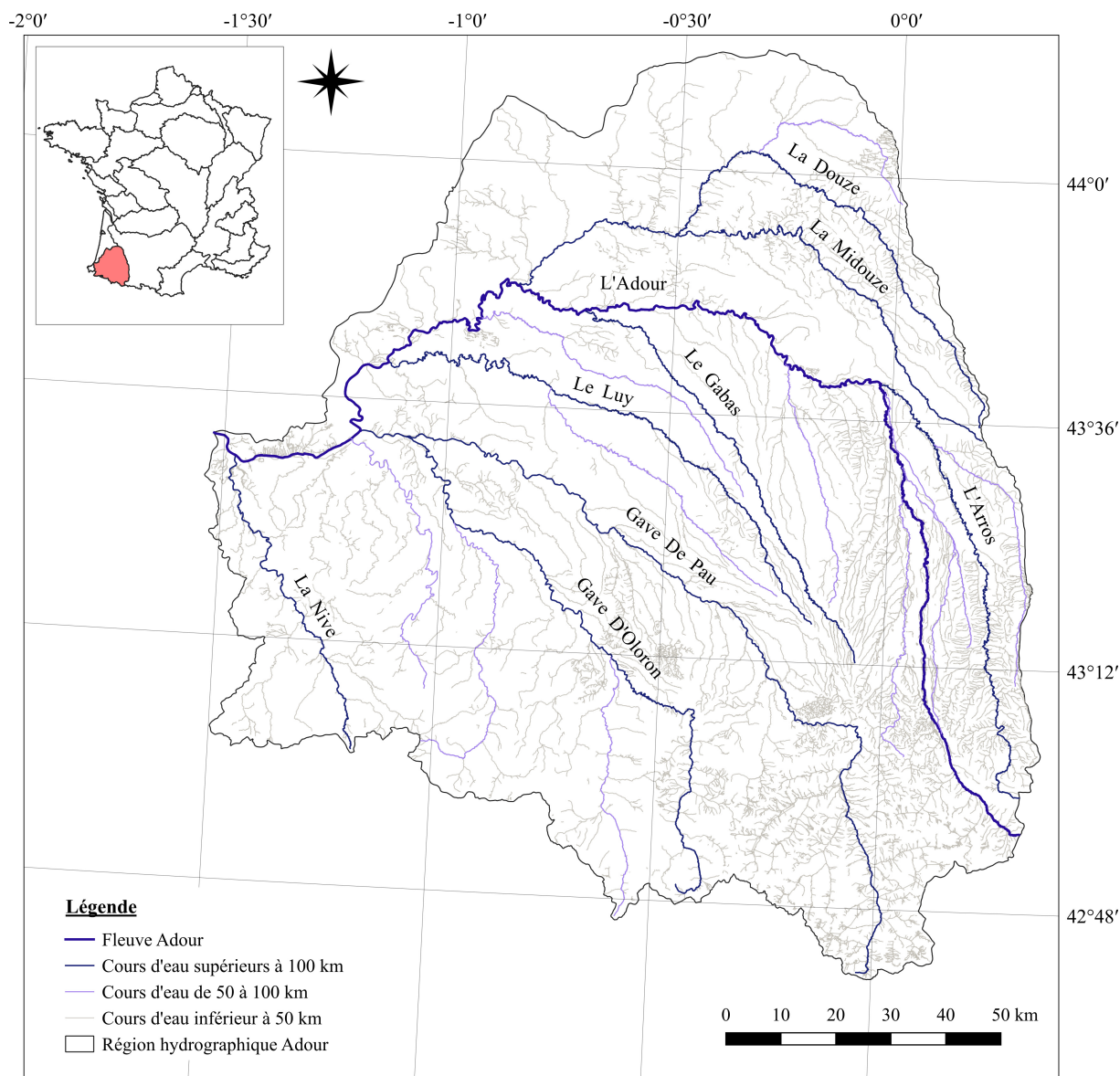


FIGURE 1.7 – Carte de la région hydrographique Adour et de ses cours d'eau majeurs, réalisée sous le logiciel QGIS.

En amont, on trouve surtout des prairies permanentes et temporaires ainsi que des estives (Figure 1.8). Bien qu'il ne s'agisse pas directement d'agriculture, ces zones de pâturages correspondent essentiellement à l'élevage d'herbivores (bovins, ovins, caprins) (INSTITUTION ADOUR, 2017).

L'élevage peut être des sources d'entrée de contaminants dans les écosystèmes aquatiques, notamment les produits vétérinaires (OBIMAKINDE et al., 2017).

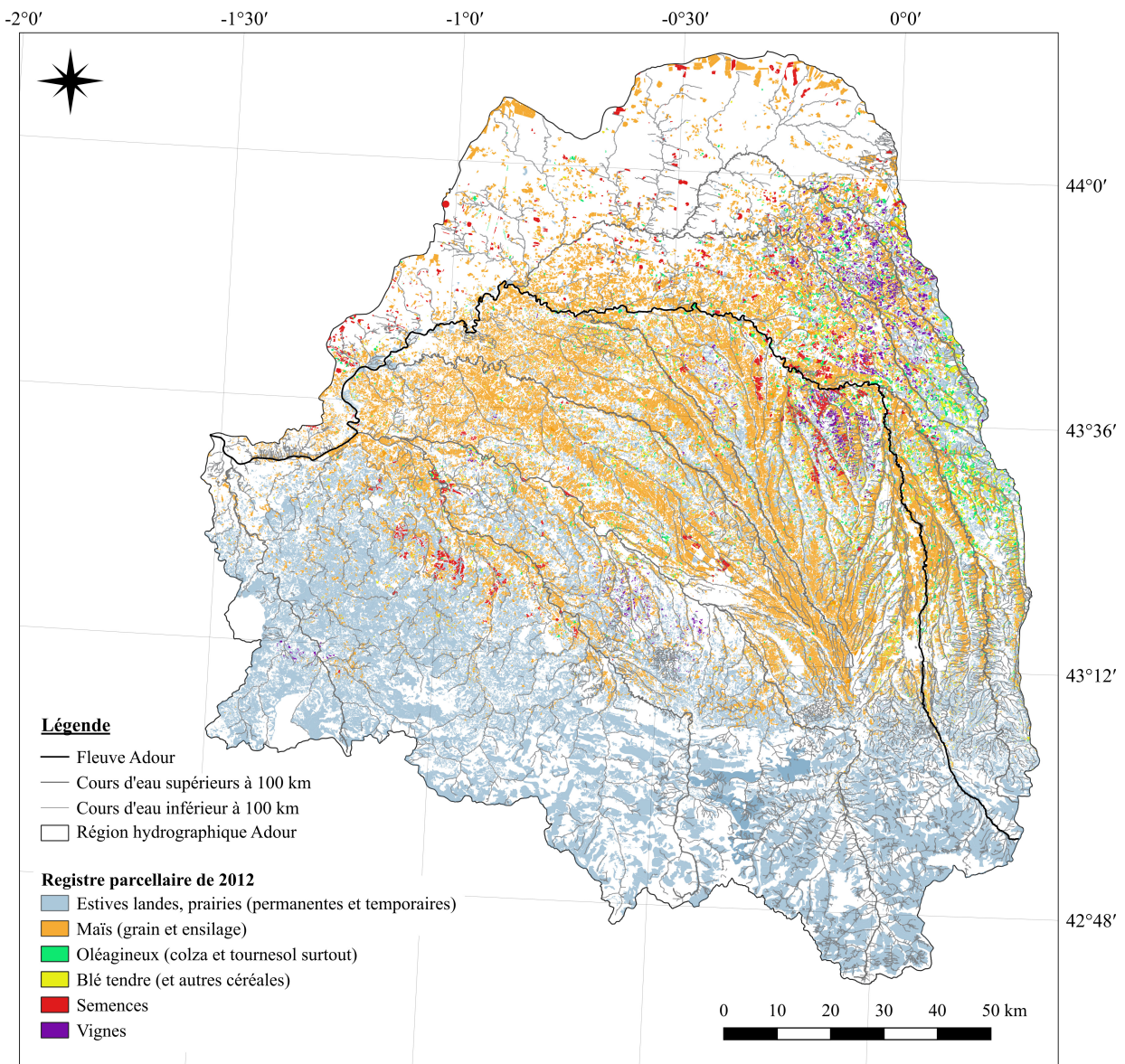


FIGURE 1.8 – Carte du registre parcellaire de 2012 de la région hydrographique Adour obtenue à partir de la base de donnée du Registre Parcellaire Graphique (RPG) et réalisée sous le logiciel QGIS.

1.1.4.2 Descriptif de l'estuaire de l'Adour

L'estuaire de l'Adour est un estuaire de plaines côtières fortement urbanisé et très largement modifié par l'Homme. Les premiers travaux de chenalisation du fleuve ont été entrepris dès 1562 (sous la décision de Charles IX) ayant pour but de fixer son embouchure au niveau de la ville de Bayonne (Figure 1.9). Auparavant, l'embouchure ne possédait pas une position géographique fixe, elle oscillait entre Bayonne et

Capbreton, soit sur 25 km. Cette forte chenalisation aboutit actuellement à un fleuve et un estuaire **étroit**. Cette topographie joue irrémédiablement sur la dynamique hydrologique de l'estuaire.

L'estuaire est directement formé par l'union deux cours d'eau, l'**Adour** et la **Nive**. Leur confluence se situe en plein cœur de la ville de Bayonne (Figure 1.9). La limite d'intrusion saline de l'estuaire de l'Adour est située approximativement au niveau de la ville d'**Urt** sur l'Adour.

Comme présenté plus haut, le régime des eaux de la partie aval de l'Adour est hétérogène. Il est influencé par un **régime majoritairement pluvial de l'Adour**, un **régime nivo-pluvial des Gaves réunis** et des **marées semi-diurnes**, c'est-à-dire, présentant deux pleines mers et deux basses mers par jour. En résulte un estuaire à **coin salé**, sous un régime **mésotidal** marqué par un très faible temps de résidence des masses d'eau (DEFONTAINE, 2019). Le débit moyen de l'estuaire de l'Adour est de l'ordre de $300 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (Banque HYDRO¹). Cependant, ce débit est très irrégulier pouvant varier de $50\text{-}60 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ à l'étiage à plus de $2\,000 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ en période de crue (liée à la fonte des neiges).

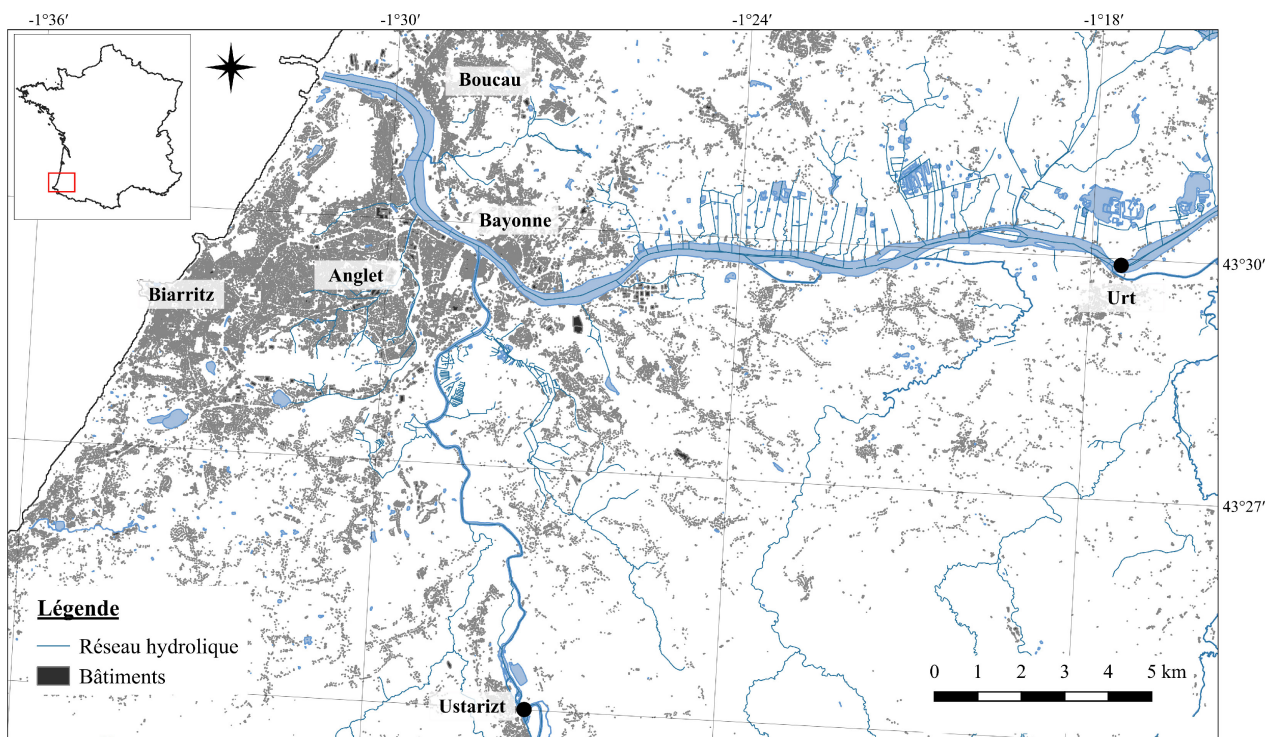


FIGURE 1.9 – Carte de la zone estuarienne de l'Adour, réalisée sous le logiciel QGIS.

Précisément au cours des 3 dernières années, le débit moyen était estimé à $291,5 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (Figure 1.10) en aval de l'estuaire. On peut observer d'importants épisodes de crues au mois de mai et juin et inversement

1. Banque HYDRO, base de données du Ministère de l'Ecologie, du développement durable et de l'énergie. Disponible à l'adresse : <http://www.hydro.eaufrance.fr>. Consulté en septembre 2019.

d'étiage en août et septembre.

Les débits ponctuels de l'Adour sur la période de 2016 à 2018 présentèrent une amplitude estimée variant de 53,61 et 3 174 $\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (Figure 1.10).

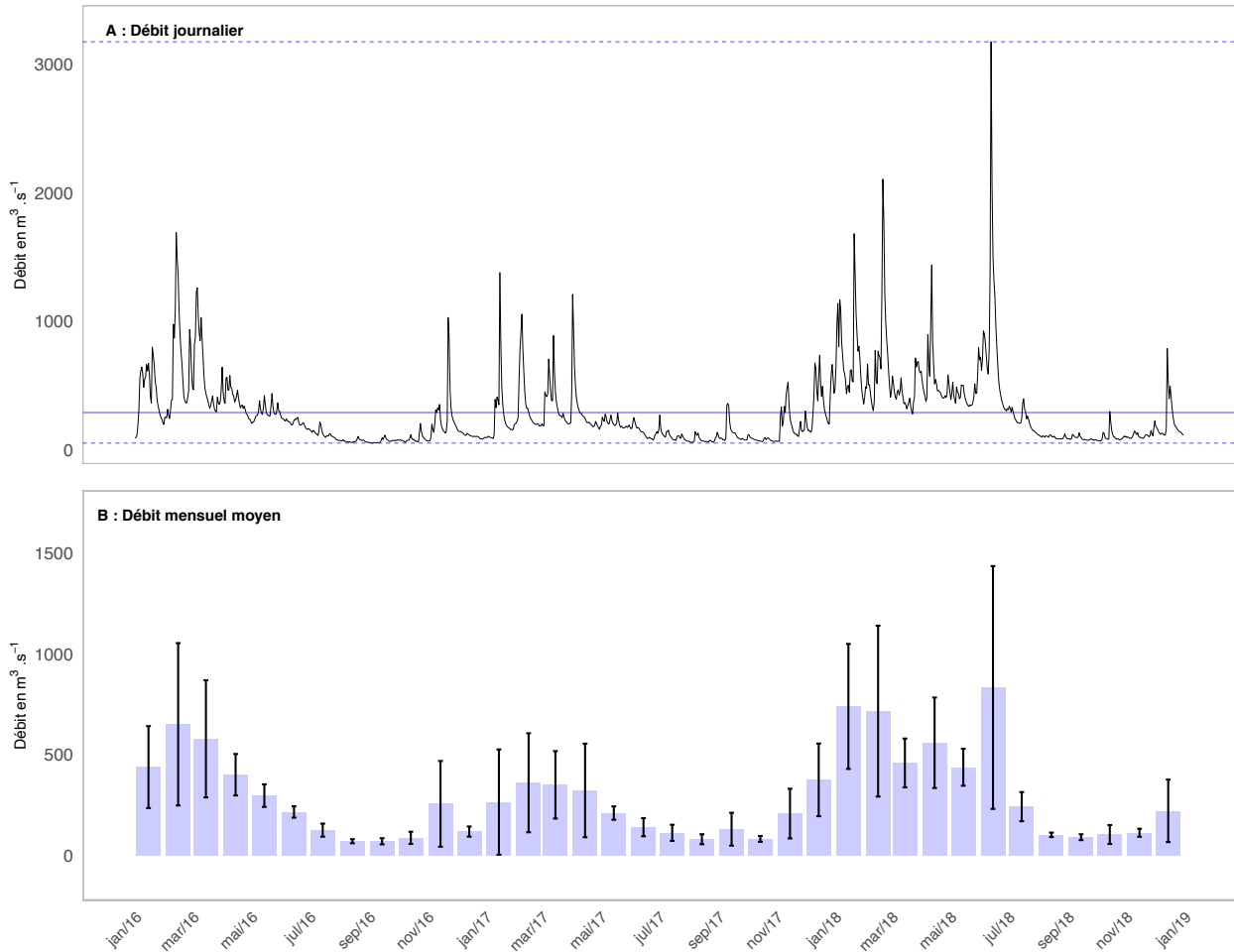


FIGURE 1.10 – Débit journalier (A) et débit mensuel moyen (B) de l'Adour par jour de janvier 2016 à décembre 2018 estimé d'après les données de la Banque HYDRO (cf. note page 45). Les lignes verticales continues et pointillées indiquent respectivement la moyenne et l'amplitude (minimum et maximum) du débit journalier moyen. Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type à la moyenne mensuelle.

L'estuaire de l'Adour ne présente pas dans sa partie aval de bouchon vaseux (DEFONTAINE et al., 2019). La chenalisation et la construction de deux digues à l'embouchure permettent de faciliter l'expulsion de l'eau et des sédiments de l'estuaire de l'Adour (DEFONTAINE et al., 2019).

1.1.4.3 Le tissu urbain de Bayonne-Biarritz-Anglet

Les principaux estuaires français sont souvent caractérisés par la présence de grandes villes en amont de la zone estuarienne, comme l'estuaire de la Seine avec la ville de Paris ou du Rhône avec celle de Lyon. L'estuaire

de l'Adour, lui, présente une proximité avec les zones urbaines très réduites sur le réseau hydrographique amont (Figure 1.11). La particularité de l'estuaire de l'Adour réside de ce tissu-urbain qui s'installe au niveau de l'estuaire. Le bassin-versant et l'amont de l'estuaire se trouvent relativement préserver d'impact urbain majeur et direct.

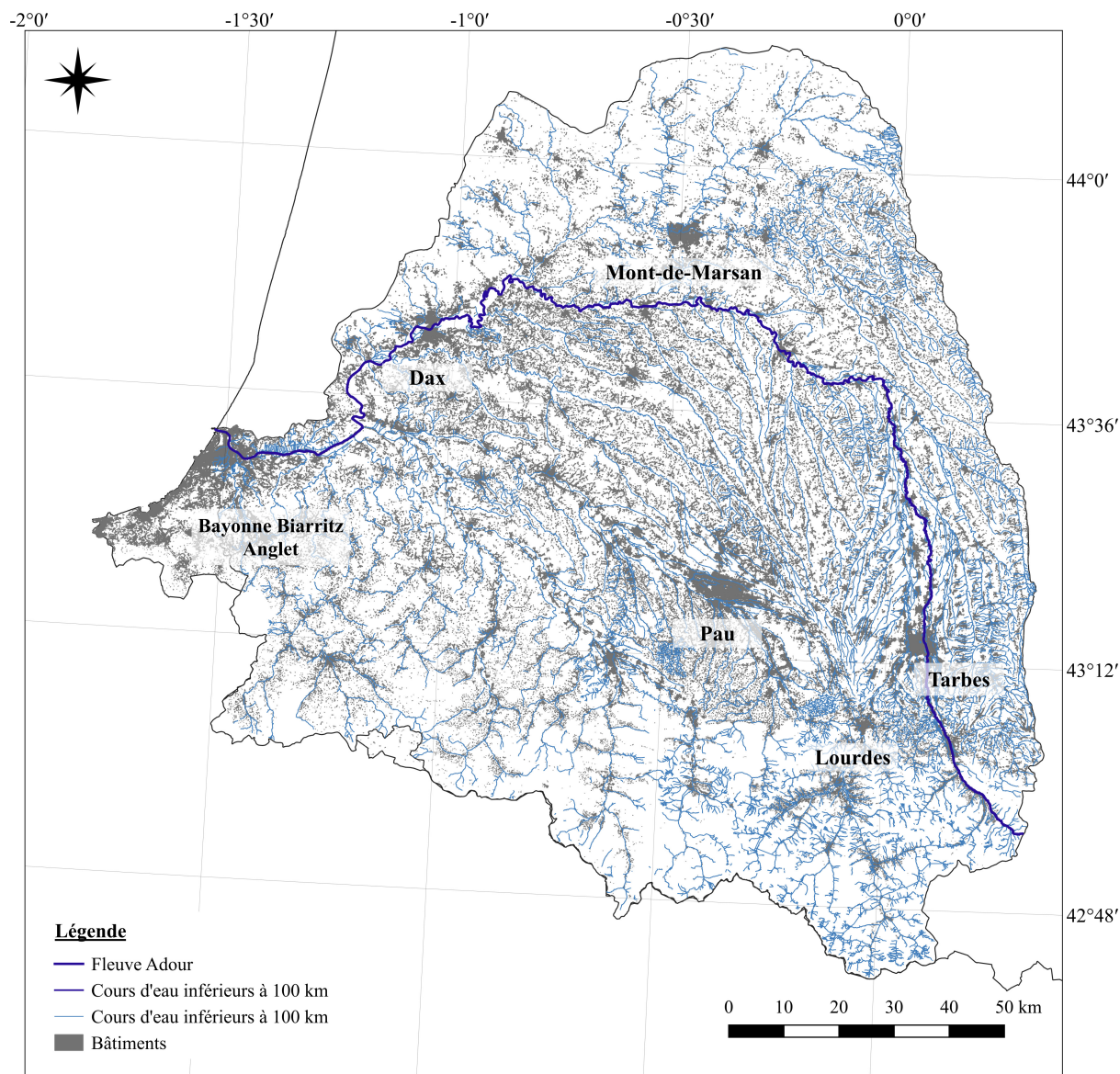


FIGURE 1.11 – Répartition des zones urbaines sur la région hydrographique de l'Adour, carte réalisée sous le logiciel QGIS

On peut noter néanmoins la présence de ville de Tarbes, Mont-de-Marsan et Dax le long du fleuve Adour ainsi que la ville de Pau le long du Gave de Pau. Ces 3 villes situés le long de l'Adour sont constituées de 20 891 à 40 318 habitants en 2016 tandis que la ville de Pau se compose elle de 77 251 habitants, soit une démographie relativement faible à moyenne à l'échelle de la France. Ainsi, l'une des particularités de l'estuaire de l'Adour réside dans la présence d'un tissu urbain dense installé quasi à l'extrême aval de l'estuaire.

Il est composé principalement par 3 villes, au sud de l'estuaire : Bayonne plus à l'amont de l'estuaire, Biarritz à l'aval sur la rive gauche et Anglet à l'aval sur la rive droite. Le dynamisme urbain et la démographie de cette zone sont loin d'être négligeable à l'échelle régionale tout du moins. Ces 3 villes réunissent à elles seules 114 029 habitants en 2016. La population de ces 3 villes est en croissance, avec une augmentation de plus de 5 000 habitants en 5 ans (de 2011 à 2016) (INSEE²). Deux villes, bien moins importantes en terme de démographies, vont être retrouvées au nord de l'estuaire de l'Adour : Tarnos et Boucau. Ces deux villes réunissent elles, 20 563 habitants en 2016, soit une augmentation d'approximativement 750 habitants en 5 ans (INSEE).

De nombreuses activités s'installent le long de l'estuaire de l'Adour : la pêche, le tourisme, des activités industries et du commerce au niveau de la zone portuaire.

Les activités de pêche s'installant le long de l'estuaire de l'Adour et sur le bassin versant de l'Adour correspondent en quasi-intégralité aux poissons migrateurs installés en France (avec l'unique exception de l'esturgeon). Les produits de pêche majoritaire sont l'alose, la lamproie marine, la truite de mer, le saumon atlantique, la bar commun, l'anguille d'Europe et son juvénile, la civelle (MARTY & PICOULET, 2017). En 2017, le saumon et l'anguille (juvénile et adulte) ont représentés 85% des captures réalisées (MARTY & PICOULET, 2017). Rappelons que les estuaires sont des zones de nurseries d'importances majeures pour le commerce piscicole. A ce titre, la pêche de la civelle (juvénile de l'Anguille) représente à un enjeu économique majeur pour la région.

- Les « rejets urbains par temps de pluie » (RUTP)

Par temps de pluie, le lessivage des zones urbaines peut entraîner une variété de contaminants à rejoindre le milieu aquatique. On identifie un apport de HAP (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques), PCB (Polychlorobiphényles), ETM (Eléments Traces Métalliques) ou encore un apport d'alkyléphols (ZGHEIB et al., 2011 ; MAO et al., 2012 ; AHRENS et al., 2015). . Les eaux de pluie peuvent directement se déverser dans les eaux de surface mais elles peuvent aussi transiter par des exutoires pluviaux. Il s'agit de grands réservoirs permettant temporairement de stocker les pluies dans le but d'éviter les épisodes de crues des cours d'eau. A titre d'exemple, le long l'estuaire de l'Adour, on en dénombre plus de 450.

- Les site industriels et sols contaminés

Les zones industrielles peuvent être source de contamination. De nos jours, les zones industrielles potentiellement émettrices sont fréquemment contrôlées afin d'éviter tout risques de déversement accidentel comme volontaire de contaminant dans l'environnement. A ce titre, le gouvernement français a mis en place différents outils afin d'améliorer le contrôle et la gestion de ces sites. Parmi eux, nous pouvons citer « GEORISQUES³

2. INSEE, Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques. Disponible à l'adresse : <https://www.insee.fr/fr/accueil>. Consulté le 08 septembre 2019.

3. GEORISQUES (anciennement BASOL), une base de données du Ministère de la Transition écologique et solidaire. Disponible à l'adresse : <https://www.georisques.gouv.fr/risques/sites-et-sols-pollues/donnees>. Consulté en octobre 2021.

» et les dispositifs de rejets industriels réguliers gérés par les agences de l'eau. Le premier étant une base de données gérées par le Ministère de l'Ecologie qui recense les sites et sols pollués (ou potentiellement pollués). Le second est un modèle législatif permettant de contrôler le niveau des rejets industriels non domestiques. Brièvement, toute industrie installée sur le sol français se doit de déclarer tout rejet industriel dans le milieu naturel ou dans un réseau d'assainissement collectif, des seuils de niveau théorique de pollution (NTP) ont été défini.

Les industries susceptibles de dépasser ces seuils sont sujettes à l'obligation de mettre en place un suivi régulier de ses rejets. Dans notre zone d'étude, les établissements redevables de rejets industriels et soumis à contrôle ainsi que les zones recensées dans les bases de données GEORISQUES sont représentés dans la figure 1.12.

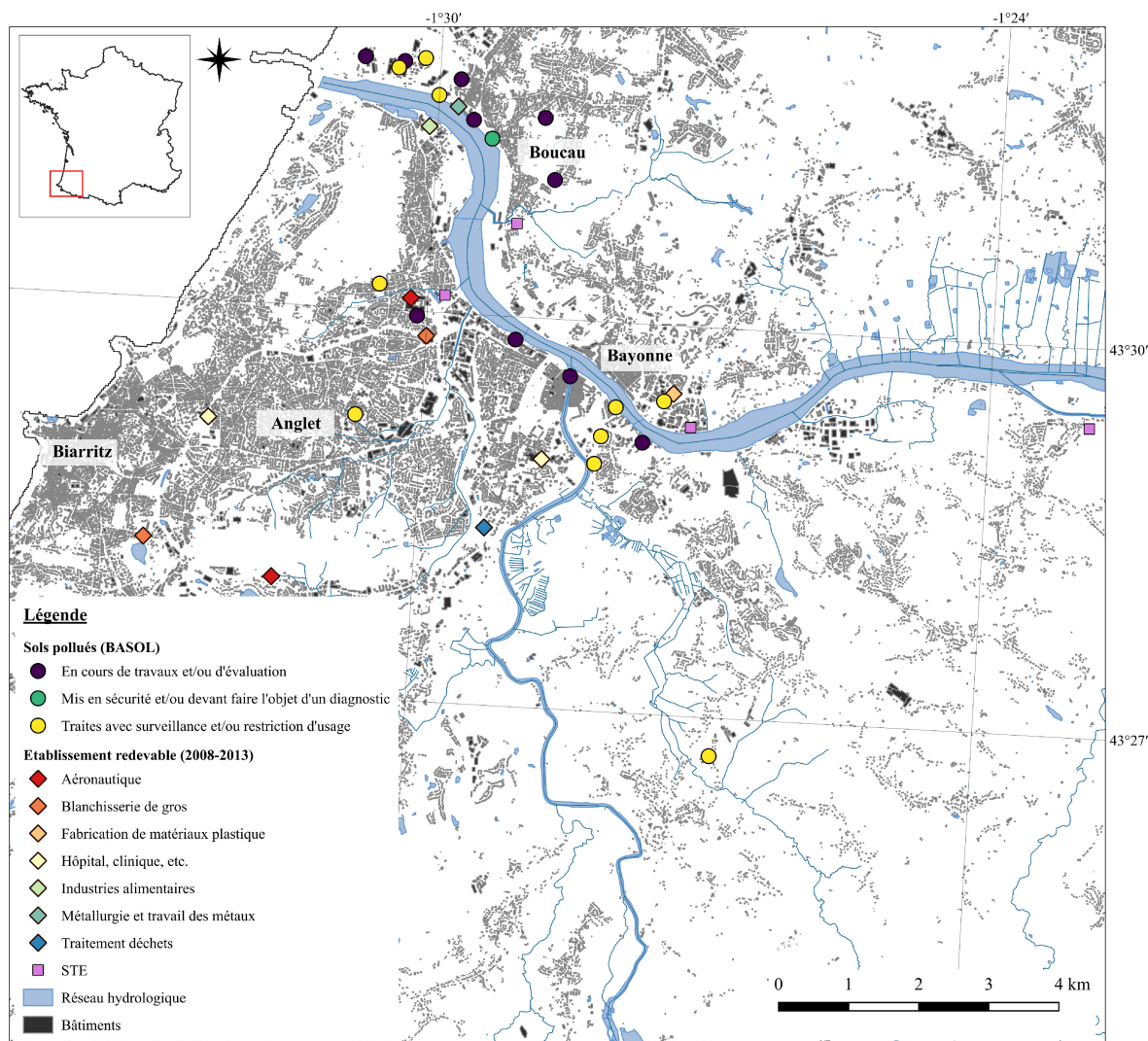


FIGURE 1.12 – Sites pollués, établissement redevable de rejet et STEU sur la zone estuarienne de l'Adour. La STEU de Tarnos n'est pas visible sur cette représentation.

Ces sites, potentiellement source de contamination s’agencent le long de l’estuaire et spécifiquement dans sa partie aval, soit entre la confluence Adour/Nive et l’embouchure. Ces sites industriels référencés bien que contrôlé peuvent être des sources d’entrées de contaminants dans l’estuaire ainsi que sur le littoral. Il est d’ailleurs clairement indiqué sur le site internet de GEORISQUES⁴, que « *les données ne peuvent cependant pas être considérées comme exhaustives* » et que « *ces informations de l’administration concernant une pollution suspectée ou avérée ne couvre pas tous les types de pollution* ».

- Les stations de traitement des eaux usées (STEU)

Le lessivage et les rejets industriels ne sont pas les seules sources de contamination des milieux aquatiques en zone urbaine. Les STEU bien que théoriquement traitant les eaux usées sont aussi des sources de contamination majeures. Leurs taux d’abattement, soit le pourcentage d’élimination d’un composé avant et après traitement, varient extrêmement en fonction du composé ciblé et du type de traitement employé. Ainsi, sur une sous-sélection de micropolluants et à l’échelle de 14 régions/pays, ce taux d’abattement variait entre 12,5 à 100% (LUO et al., 2014). Cela est surtout le cas lorsque l’on parle de contaminants organiques. Les médicaments, parfums, détergents et bien d’autres, que nous employons quotidiennement peuvent se retrouver dans les milieux aquatiques. Bien que certains traitements tertiaires permettent de réduire l’apport de ces contaminants (p. ex. traitement aux UV ou ozonation), rares sont les STEU disposant de ces technologies (LUO et al., 2014; ADELEYE et al., 2022).

TABLEAU 1.2 – Détails des STEU présentes le long de la zone estuarienne de l’Adour, de l’amont à l’aval d’après les informations fournies pour l’année 2018.

Station	Lahonce	St-Frédéric	Pont de l’Aveugle	St-Bernard	Tarnos
EH (équivalent-habitant)	3 034	47 017	119 609	9 889	24 800
Débits moyen	585	8 408	20 285	933	4 193
Raccordements communaux*	10% de Lahonce	45% de Bayonne, 100% de Saint-Pierre-d’Irube	50% de Bayonne, 100% d’Anglet, 20% d’Arcangues	5% de Bayonne, 25% de Boucau	75% de Boucau et 100% de Tarnos
Etablissement raccordés**	NA	Centre hospitalier de la côte basque, S.A. Plastibule, Centre hospitalier de la côte basque camp de prats	Alcore brigantine S.A., Dassault aviation S.A., Maison blanc Berrogain, Régie abbatoirs Biarritz Anglet Bayonne, SUEZ RV Plastiques Atlantique	NA	Acierie de l’Atlantique

NA : Not Available (Non disponible)

* : d’après Fauré (2018) et le site <http://adour-garonne.eaufrance.fr/> consulté en septembre 2020

** : Etablissements redevables à l’agence de l’eau Adour Garonne pour les rejets sur au moins une année sur la période 2008-2015 d’après Fauré (2018) et le site <http://adour-garonne.eaufrance.fr/> consulté en septembre 2020

4. GEORISQUES (anciennement BASOL), une base de données du Ministère de la Transition écologique et solidaire. Disponible à l’adresse : <https://www.georisques.gouv.fr/risques/sites-et-sols-pollues/donnees>. Consulté en octobre 2021.

Le long de l'estuaire de l'Adour, nous pouvons recenser 5 STEU en service de l'amont à l'aval : Lahonce, Mouguerre, S^t-Frédéric, Pont de l'aveugle, S^t-Bernard et Tarnos (Figure 1.12 et tableau 1.2). Parmi elles, les stations du Pont de l'Aveugle et de S^t-Frédéric sont les plus conséquentes, elles enregistraient en moyenne en 2018 des débits d'entrée de l'ordre 20 283 et 8 408 m³.j⁻¹ respectivement (MINISTÈRE DE LA TRANSITION ÉCOLOGIQUE ET SOLIDAIRE, 2019). Notons qu'aucune de ces STEU ne dispose d'un système de traitement tertiaire⁵.

5. Portail d'information sur l'assainissement communal du Ministère de la Transition écologique et Solidaire. Disponible à l'adresse : <http://assainissement.developpement-durable.gouv.fr>. Consulté le 20 septembre 2020.

1.2 Dynamique de la contamination chimique en milieu estuarien urbanisé

1.2.1 Notion de micropolluant et de pollution émergente

L'action humaine sur les écosystèmes via le rejet de substances chimiques est loin d'être récent, l'utilisation de pesticides remonte à l'Antiquité (PANAGIOTAKOPULU et al., 1995), néanmoins l'ère industrielle et l'avènement de chimie de synthèse entraînent une prolifération de substances variées dans les écosystèmes. La présence de ces substances ne fut bien évidemment pas sans conséquence. Différentes catastrophes environnementales au XX^{ème} siècle sont venues alerter les sociétés sur le danger que peuvent représenter les polluants à la fois sur l'Homme et son milieu. Jusqu'à la fin du XX^{ème}, ces préoccupations, liées aux substances chimiques, restent limitées à quelques groupes de contaminants, tels que les HAP (Hydrocarbures aromatiques polycycliques), les pesticides, certains métaux ou encore les dioxines. En parallèle, l'essor de la chimie de synthèse ne cessa de croître et le nombre de substances nouvelles produites augmenta exponentiellement.

Grâce aux développements des méthodes analytiques, on parvient de mieux en mieux à détecter et identifier les composés chimiques dans l'environnement. Et la transition XX et XXI^{ème} siècles se caractérisa par une inquiétude de la communauté scientifique face à une pollution caractérisée certes par des concentrations bien inférieures à ce que l'on observait par le passé mais surtout au nombre et une diversité croissante de substances détectés dans tous les milieux (air, sol et eaux) et pouvant présenter une toxicité. Ces composés sont définis comme des **micropolluants**.

Ces substances sont d'origines diverses comme activités industrielles, agricoles, sanitaires mais aussi domestiques, comme l'emploi de détergent, la prise de médicaments, l'utilisation de substances plastiques, etc.

On peut néanmoins s'inquiéter de leur toxicité, comme le démontre les données produites par eurostat⁶ en 2020, 76% des substances chimiques produites en Europe représentent un danger pour la santé et 26% pour l'environnement (Table 1.3). De 2010 à 2020, ces substances dangereuses produites semblent approximativement diminuer, passant de 233 à 230 millions de tonnes et de 86 à 80 million de tonnes, pour un danger sur la santé et sur l'environnement respectivement. Cette réduction de faible ampleur a été d'ailleurs atténuées depuis 2016/2017, période depuis laquelle on observe une augmentation de la production européenne des substances dangereuses pour la santé et pour l'environnement.

Ces substances se retrouvent dans les milieux aquatiques principalement via le lessivage des sols par temps de pluie et surtout par les STEU. Puisque, face à la faible concentration et à la diversité de composés, les STEU peuvent se révéler dans l'incapacité de traiter ses composés. Dans une étude comparative, Luo et ses

6. eurostat, l'Office statistique de l'Union européenne. Disponible à : <https://ec.europa.eu/eurostat/fr/home>. Consulté en septembre 2021.

TABLEAU 1.3 – Evolution de la produits de substances chimiques (en million de tonnes) dans l’Union européenne (27 pays, excluant le Royaume-Uni) selon leur dangerosité de 2008 à 2020.

	Dangereux et non-dangereux (total)	Danger pour la santé	Danger pour l’environnement
2008	310	239 (77%)	92 (30%)
2009	268	203 (76%)	76 (28%)
2010	306	233 (76%)	86 (28%)
2011	295	223 (75%)	84 (29%)
2012	292	217 (74%)	80 (27%)
2013	289	217 (75%)	80 (27%)
2014	294	221 (75%)	80 (27%)
2015	292	217 (74%)	78 (26%)
2016	290	213 (73%)	75 (26%)
2017	297	217 (73%)	74 (25%)
2018	299	218 (73%)	76 (25%)
2019	300	222 (74%)	82 (27%)
2020	302	230 (76%)	80 (26%)

collaborateurs ont estimé que les taux de rétention des STEU sur différents pays d’Europe variaient de 12,5 à 100% en fonction du composé (LUO et al., 2014).

Ainsi, nous définissons les **micropolluants** comme des substances chimiques majoritairement d’origines anthropiques, susceptibles d’avoir une action toxique à faible dose sur un environnement donné. Ces composés sont généralement présents à l’état de trace, de l’ordre du microgramme au nanogramme par litre ou gramme.

Parmi l’appellation de micropolluants, nous distinguerons deux catégories, les substances dites **prioritaires** et les **substances émergentes**. Cette première catégorie fait référence aux composés dont l’impact sur la santé humaine comme environnementale est historiquement connu, ils ont fréquemment été l’objet d’étude environnementale et leur utilisation est généralement réglementée. Cette catégorie sera constituée par exemple des HAP, des PCB (polychlorobiphényles) ou du mercure. De nombreux composés listés dans cette catégorie sont d’ailleurs classés parmi les POP (polluants organiques persistants). L’appellation de substance émergente fait simultanément référence à des substances nouvellement produites ou celles dont la réelle commercialisation est relativement récente comme les retardateurs de flamme et de substances dont la dangerosité pour les écosystèmes et/ou l’Homme a été longtemps sous-évaluée comme certains pesticides ou les muscs synthétiques et sont généralement peu ou pas connue.

Dans ce document, une première dissociation sera faite entre les substances prioritaires et émergentes. Une seconde distinction sera employée, elle séparera les contaminants en fonction de leur nature : les éléments traces métalliques (ETM), les contaminants organiques (prioritaires et émergents) et les contaminants organométalliques.

1.2.2 Les éléments traces métalliques (ETM)

Les métaux sont des éléments naturellement présents dans les roches-mères de la croûte continentale terrestre. Ce sont des composés ubiquitaires, non-dégradables et persistants (car non dégradables). L'expression **éléments traces** désignent des éléments présents dans la croûte terrestre à de très faibles proportions (inférieur à 1g.kg^{-1}). Les sols présentent naturellement des niveaux de concentration en métaux qui dépendent du type de sol. On définit ainsi localement un fond pédogéochimique établissant la concentration en métaux présente sans l'apport anthropique (BAIZE, 1997).

Naturellement, par l'altération de la roche-mère sous-jacente suite au lessivage des sols, ces métaux vont transiter vers le milieu aquatique. L'eau joue le rôle de vecteur de transport, et on retrouve ces éléments dans les cours d'eau, rivières, fleuves et océans sous la forme dissoute ou associés aux matières en suspension constituées en majorité d'éléments dits « majeurs » (p.ex. Ca, Mg, Na). Les métaux sont également présents dans l'atmosphère sous la forme d'aérosols et dans de rares cas, sous la forme de gaz (comme le mercure) (NRIAGU, 1989). Les cycles biogéochimiques des métaux représentent les flux de substances entre les différents réservoirs quantifiables. On peut distinguer les flux dits anthropiques et les flux naturels. Actuellement, il est clairement établi que pour de nombreux ETM, ces flux sont perturbés par les activités anthropiques qui vont engendrer une accumulation des composés dans les écosystèmes (PAN & WANG, 2012; DIARRA & PRASAD, 2021).

Ces apports anthropologiques proviennent de sources multiples : agricoles, (p. ex. les métaux entrent dans la composition de pesticides et de fertilisants), l'industrie (au travers de l'industrie minière ainsi que de divers rejets industriels), le réseau automobile (certains métaux étant ou furent des adjuvants à l'essence comme le plomb), etc. (ALLAN, 1997; HE et al., 2005a; BRADL, 2005; ZHANG et al., 2016; DIARRA & PRASAD, 2021). Les métaux présentent des capacités physico-chimiques d'intérêt majeur pour de nombreuses industries, comme leur conductivité électrique et thermique. Ils sont encore fréquemment employés dans nos quotidiens.

Cette fraction « anthropique » des ETM peut ensuite être introduite dans les différents environnements. Ces flux touchent particulièrement les milieux aquatiques et tout comme les flux naturels d'ETM, ces flux anthropiques peuvent rejoindre les matrices aquatiques. Les ETM dans les matrices aquatiques peuvent être issus de dépôts atmosphériques (émissions industrielles et automobiles), du ruissellement des eaux à la surface des zones urbaines et agricoles, ou encore les rejets directs d'ETM dans les réseaux d'assainissement (BUZIER et al., 2006; HARMESA et al., 2022). Ainsi, par récupération des eaux pluviales ou par rejets directs, les ETM transitent fréquemment et massivement par des STEU. Les boues résiduelles des traitements des STEU renferment une charge importante de ETM, elles peuvent ensuite être mises en décharge ou épandues sur des terrains agricoles (HE et al., 2005a). Malgré des contrôles existants, une partie des ETM présents dans ces boues peuvent alors de nouveau rejoindre les voies d'accès citées précédemment et se retrouver de nouveau dans les milieux aquatiques (HE et al., 2005a).

TABLEAU 1.4 – Description, réglementation et toxicité des métaux ciblés. Les couleurs pour le CE50 permettent de différencier les métaux dont la CE50 est inférieure à 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (rouge), comprises entre 100 et 1 000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (orange), entre 1 001 et 100 000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (jaune) et supérieure à 100 000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (vert), le tout d’après Okamoto et al., 2015.

Nom	Abbréviation	Numéro atomique	Normes environnementales	CE50 ^c ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
Antimoine	Sb	51	-	4 100
Argent	Ag	47	-	0,91
Arsenic	As	33	-	2 400
Cadmium	Cd	48	DCE ^a & OSPAR cat. A ^b	3,6
Chrome	Cr	24	-	130
Cobalt	Co	27	-	710
Cuivre	Cu	29	-	13
Étain	Sn	50	-	6 200
Mercure	Hg	80	DCE ^a & OSPAR cat. A ^b	0,65
Molybdène	Mo	42	-	1 500 000
Nickel	Ni	28	DCE ^a	650
Plomb	Pb	82	DCE ^a & OSPAR cat. A ^b	290
Sélénium	Se	34	-	710
Thorium	Th	90	-	NA
Titane	Ti	22	-	NA
Uranium	U	92	-	NA
Vanadium	V	23	-	1 200
Zinc	Zn	30	-	720

NA : Not Available (Non disponible)

^a substances listées dans le DCE (*Directives Cadre sur l'Eau*) (annexe X de la directive 2000/60/CE)

^b substances citées dans la catégorie A de la liste des produits chimiques devant faire l’objet de mesures prioritaires produite par la convention OSPAR (*OSlo PARis convention*).

^c CE50 correspondent à la *Concentration efficace médiane*. La CE50 est un estimateur de la toxicité aiguë. Les valeurs ici sont obtenues pour l’espèce *Daphnia magna* et d’après Okamoto et al., 2015.

Une fois dans les systèmes aquatiques, les ETM vont se répartir entre les phases dissoutes, particulaires et les sédiments (HARMESA et al., 2022). Leur répartition, leur devenir et les biodisponibilités sont intimement liés à la spéciation des ETM (DE PAIVA MAGALHÃES et al., 2015 ; OKAMOTO et al., 2015 ; ACQUAVITA et al., 2021). Cette dernière correspond à la distribution des différentes formes chimiques possibles pour un élément donné. Dans la phase dissoute, les ETM peuvent être libres ou complexés avec des ligands. Néanmoins, une partie des ETM se trouvera associée aux phases particulaires, soit incluse dans les particules ou adsorbés à leur surface (TURNER & MILLWARD, 2002 ; HARMESA et al., 2022). La répartition d’un élément métallique entre ces différentes phases est aussi fonction de conditions physico-chimique du milieu (température, pH, salinité, etc.). De plus, la composition et la concentration en matière organique dans le milieu jouent un rôle primordial sur la disponibilité, la répartition et aussi la toxicité des ETM (HE et al., 2005a ; AMIGO et al., 2012 ; ACQUAVITA et al., 2021 ; HARMESA et al., 2022).

Ainsi, les ETM vont tendre à s’accumuler dans la phase particulaire et les sédiments. Les sédiments sont des réservoirs en ETM (TESSIER & CAMPBELL, 1987 ; ZHANG et al., 2016 ; ACQUAVITA et al., 2021 ; HARMESA et al., 2022). Cependant, par modification des conditions physico-chimiques et/ou remobilisation des sédiments sous une action mécanique (courants, organismes benthiques), ces sédiments peuvent se comporter en source

secondaire d'ETM pour la colonne d'eau (GIBBS, 1977; HART, 1982; ZHANG et al., 2016).

Rappelons qu'une partie des métaux et métalloïdes sont des micronutriments nécessaires à la vie, tels que le cuivre, le zinc, le fer ou le sélénium (RAVEN et al., 1999; PINTO et al., 2003; HE et al., 2005a). Ils vont entrer dans la composition de complexes métalliques assurant des fonctions primordiales à la vie comme la photosynthèse (cuivre) ou la respiration (fer). Ils sont essentiels, mais à une certaine dose, généralement faible, on parle d'ailleurs d'oligoélément (*oligo* signifiant en grec « faible », « petit »). Au-dessus des concentrations nécessaires au vivant, ils deviennent toxiques. D'autres éléments à l'inverse sont eux toxiques à très faible dose, voir complètement non-essentiel, c'est le cas du cadmium, du plomb ou du mercure (ALLAN, 1997; HE et al., 2005a). La spéciation des métaux ainsi que différents paramètres environnementaux (comme le pH, potentiel redox, etc.) vont ici aussi influencer la biodisponibilité et la toxicité des métaux (BERNHARD et al., 1986; DE PAIVA MAGALHÃES et al., 2015; OKAMOTO et al., 2015; ACQUAVITA et al., 2021; HARMESA et al., 2022). Le tableau 1.4 nous indique différentes valeurs de CE50, soit la concentration pour laquelle l'élément présente un effet négatif pour la fraction vivante. Ces données sont réalisées sur un modèle d'étude écotoxicologique (*Daphnia magna*), ces valeurs peuvent ainsi varier énormément d'un modèle à l'autre, mais aussi en fonction des conditions expérimentales et de la spéciation des ETM. Elles sont donc à prendre avec précautions d'autant plus qu'elles ne prennent pas en compte d'éventuels effets d'une toxicité sur le long terme (dite chronique), ni de potentiels effets cocktail (mélange de différents composés). Néanmoins, on peut observer qu'une majorité des ETM pris en compte lors de cette étude peuvent présenter un certain niveau toxicité aiguë pour le vivant, de même ce niveau de toxicité est hautement variable d'un élément à l'autre. D'après ces valeurs, une plus grande attention devrait être apportée aux éléments tels que l'argent, le cadmium, le cuivre et le mercure. Autrement, certains ETM sont actuellement sous le coût d'une réglementation environnementale, c'est le cas du cadmium, mercure, nickel et du plomb (Tableau 1.4).

Brièvement, la toxicité des ETM repose sur leur capacité de pénétrer les membranes cellulaires (PINTO et al., 2003). Une fois dans la cellule, ces ETM peuvent directement atteindre à la structure de la cellule (entraînant la dépolarisation des membranes, l'acidification du cytosol, altérer le fonctionnement de certaines protéines, etc.) mais aussi induire un stress oxydatif et la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS, *Reactive oxygen species*) (PINTO et al., 2003; DIARRA & PRASAD, 2021).

1.2.3 Les composés organométalliques

Les organométalliques sont comme leur nom l'indique des composés constitués à la fois de métaux et des groupes carbonatés, liés au moins par une liaison covalente. L'appréciation globale de la concentration d'un élément métallique (concentration totale) dans l'environnement est seule bien insuffisante pour qualifier l'impact des éléments métalliques sur les écosystèmes. La **spéciation** des éléments métalliques est essentielle pour la réelle prise en compte du danger que représente l'élément (BERNHARD et al., 1986; ACQUAVITA et al., 2021). Elle va influencer son cycle biogéochimique, sa capacité de bioaccumulation, sa toxicité et

son écotoxicité. Une fois complexé à de la matière organique, un élément métallique peut présenter une toxicité bien supérieure à celle de l'état inorganique, c'est le cas du mercure mais aussi de l'étain. Parfois, c'est le schéma inverse qui est observé et la forme organométallique présente une toxicité moindre vis-à-vis de l'élément inorganique, comme pour l'arsenic. Dans le cadre de ces travaux, nous nous focaliserons sur deux sous-groupes d'organométalliques, les **organomercuriels** et les **organostanniques**, deux familles de composés sources de grandes préoccupations environnementales.

Le **mercure** est présent dans l'environnement marin et dulcicole préférentiellement sous une forme inorganique bivalente (Hg^{2+}) (COSSA et al., 1990). Il est majoritairement stocké dans les sédiments qui agissent comme des réservoirs, pouvant, en fonction des conditions physico-chimiques, de la spéciation du mercure et de la dynamique biologique, remobiliser le mercure dans la colonne d'eau ou encore l'intégrer dans les réseaux trophiques (ACQUAVITA et al., 2021). Dans des conditions biotiques et abiotiques, le mercure inorganique (Hg^{2+}) peut être transformé en méthylmercure (CH_3Hg^+), un composé présentant une toxicité bien supérieure (STEIN et al., 1996; ACQUAVITA et al., 2021). La dangerosité de ce composé est d'ailleurs bien connue depuis les incidents de la baie de Minamata (Japon) durant lequel le méthylmercure formé dans les sédiments s'accumula le long de la chaîne trophique provoquant le décès d'abord de nombreux chats puis rapidement, ce furent les habitants de Minamata qui présentèrent des troubles neurologiques (altération de la vue, troubles mentaux, malformations chez les nourrissons, etc.) suite à la consommation de poissons de la baie (KUDO & MIYAHARA, 1991). La formation du méthylmercure semble être favorisée en condition anoxique et en association à la présence de bactéries sulfato-réductrices, deux conditions aisément réunies dans les sédiments (STOICHEV et al., 2006; DURAN et al., 2008).

Les composés **organostanniques** ou **organoétains** sont des dérivées organiques de l'étain minéral. Ils sont majoritairement d'origine anthropique à l'exception des méthylétains. Ils furent employés dès 1940 dans la production de matières plastiques et lors des 60 années qui suivirent furent utilisés dans de multiples champs d'application exploitant principalement, les propriétés biocides des composés trisubstitués comme le **TBT** (tributylétain) ou le **TPhT** (triphenylétain). On retrouva ainsi du TBT dans les pesticides, dans les agents de traitement du bois et surtout dans les peintures antisalissures (« anti-fouling ») employés massivement dans la protection des revêtements de bateau et de structures immergées (ponton, quai, etc.) (HOCH, 2001).

Du fait de l'emploi massif du TBT dans les peintures de revêtement des navires, il se diffusa aisément dans les environnements aquatiques. Dès les années 1980, on prit conscience des effets dangereux engendrés par les TBT sur les productions ostréicoles provoquant la formation d'anomalies de calcification (ALZIEU et al., 1981). Plus largement, il a été démontré que TBT et le TPhT sont des perturbateurs endocriniens pour les organismes aquatiques entraînant la masculinisation des femelles (CHIAVARINI et al., 2003) et cela même à de très faibles concentrations. Plus particulièrement, le TBT est extrêmement toxique, en supplément de ces effets déjà cités, il agirait aussi comme un neurotoxique sur certaines espèces (FERREIRA et al., 2013; GRACELI et al., 2013). Théoriquement, la demi-vie du TBT dans l'environnement est de l'ordre de quelques

jours à quelques semaines dans la colonne d'eau. Cependant, une fois associés aux sédiments surtout en condition d'anoxie, il serait beaucoup plus persistant et serait stocké pendant plusieurs années (HOCH, 2001). Ces produits de dégradations, le **MBT** (monobutylétain) et de **DBT** (dibutylétain), présentent eux aussi une certaine toxicité (HOCH, 2001 ; GRACELI et al., 2013 ; FERREIRA et al., 2013).

A la suite de ces observations, une législation fut instaurée concernant la régulation et la commercialisation du TBT. La France fut d'ailleurs l'un des pays précurseurs interdisant son utilisation et sa commercialisation dès 1982 mais uniquement pour les navires de moins de 25 m. Elle fut rejointe par la communauté internationale et surtout l'Union européenne (UE) qui s'accorda autour d'une interdiction d'application de composés organostanniques sur les navires et appareillages dédiés à être immergés en partie ou complètement en 2003 et leur élimination des navires existant à partir de 2008⁷.

1.2.4 Les contaminants organiques

Cette dernière catégorie est l'une des plus remarquables. Elle regroupe un nombre inestimable de composés. Les contaminants organiques sont étroitement liés à la révolution industrielle et à la chimie de synthèse. Les sociétés humaines pour le besoin divers sont des sources de création, production et émission d'un nombre incalculable de composés organiques. Nos quotidiens que ce soit au travers des industries, de l'agriculture, des produits phytosanitaires ou des besoins domestiques emploient et déversent dans les écosystèmes ces composés organiques.

Parmi l'immensité de micropolluants qui vont constituer cette catégorie, certains sont qualifiés de polluant organique persistant (POP). Cette appellation fait référence à des composés qui présentent une excessive persistance dans l'environnement. Ils ont des demi-vies très longues. On peut citer parmi les POP les plus connus, les HAP, les PCB, les dioxines ou certains pesticides organochlorés. Face au danger que représente la persistance de ces contaminants, une partie de la communauté mondiale se réunit au sein de l'ONU Environnement (UNEP : United Nations Environment Programme) afin d'éditer un accord international (Convention de Stockholm) visant à lister, puis à réduire voire arrêter l'emploi des POP les plus alarmants. En 2001, ils créèrent ainsi la liste des « 12 vilains » constituée de : l'aldrine, le chlordane, le DDT, la dieldrine, l'endrine, l'heptachlore, le mirex, le toxaphène, les PCB, l'hexachlorobenzène, les dioxines (agent orange et autres) et les furanes. Ces composés doivent bénéficier d'une attention particulière de la communauté scientifique et des gouvernements dans le but d'éliminer, de restreindre ou de réduire leur production involontaire. La convention de Stockholm fut signée par 152 pays signataire et entra en vigueur en 2004. Après différents amendements, elle référence actuellement 33 composés.

7. Directive **2002/62/CE** de la Commission du 9 juillet 2002 portant neuvième adaptation au progrès technique de l'annexe I de la directive 76/769/CEE du Conseil concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des Etats membres relatives à la limitation de la mise sur le marché et de l'emploi de certaines substances et préparations dangereuses (composés organostanniques).

1.2.4.1 Les HAP, PCB et pesticides organochlorés

1.2.4.1.1 Les hydrocarbures aromatiques polycycliques : POP prioritaires

Les **hydrocarbures aromatiques polycycliques** (HAP) sont des composés organiques constitués d'atomes de carbone et d'hydrogènes et leur structure est formée d'au moins deux cycles aromatiques (MENZIE et al., 1992; MOJIRI et al., 2019). La structure et la masse d'un HAP vont influencer ses propriétés physiques. Plus le poids moléculaire d'un HAP est important, plus le composé est lipophile, il en va de même pour leur solubilité (NIKOLAOU et al., 2009; MOJIRI et al., 2019). Inversement, les HAP dits légers (possédant 3 cycles ou moins) vont être caractérisés par une pression de vapeur plus importante et ainsi être plus volatil. Cela étant, ces composés restent majoritairement très hydrophobes. Leur **log K_{ow}** , le coefficient de partage entre l'octanol et l'eau, un indicateur de la distribution d'un composé entre une phase organique et une phase aqueuse est pour ces composés généralement supérieurs à 3, ce qui caractérise des composés typiquement lipophiles.

Plusieurs centaines de HAP ont été caractérisés et théoriquement, cette famille de composés pourrait être constituée de plusieurs milliers de molécules. Néanmoins, en routine, c'est l'étude et le suivi de 16 d'entre eux qui est préconisé, selon les recommandations de l'Agence environnementales des Etats-Unis (US EPA) [^us] (MENZIE et al., 1992; MOJIRI et al., 2019) et celles de la Directive Cadre sur l'eau (Tableau 1.5).

Ces 16 HAP prioritaires sont constitués de 2 à 6 cycles aromatiques, ils représentent un « panel » de HAP assez fréquemment rencontrés et indicateurs de la diversité de comportements des HAP. Leur masse moléculaire varie de 128,2 g.mol⁻¹ pour le naphthalène à 276,3 g.mol⁻¹ pour le benzo(g,h,i)pérylène et l'indéno(1,2,3-cd)pyrène, leur log K_{ow} est compris entre 3,1 et 6,7 pour réciproquement le naphthalène et l'indéno(1,2,3-cd)pyrène (Tableau 1.5).

Ils sont utilisés comme « indicateurs » de présence des HAP, bien que l'emploi et la limitation de l'analyse des HAP dans leur globalité à ces 16 composés a été et reste critiqué (ANDERSSON & ACHTEN, 2015). Selon ces auteurs, cette liste mériterait d'être réévaluée, notamment au regard de l'utilisation et l'occurrence environnementale d'HAP préoccupants non compris dans cette liste dont des HAP plus lourds, de dérivés alkylés des HAP ou encore d'HAP hétérocycliques (ANDERSSON & ACHTEN, 2015; DODDS et al., 2021). Dans le cadre de cette thèse, dans le but de conserver un nombre raisonnable de composés appartenant à différentes catégories de composés, nous nous limiterons néanmoins à l'emploi et l'analyse des 16 HAP prioritaires.

TABLEAU 1.5 – Propriétés physico-chimiques des HAP ciblés dans cette étude.




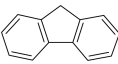
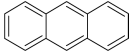
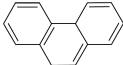
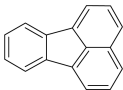
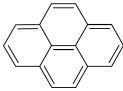
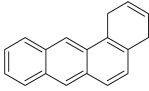
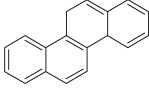
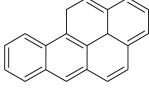
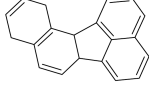
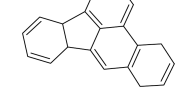
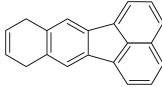

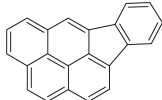
Nom	CAS	Formule brute	Structure	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Log K _{OW}	Solubilité dans l'eau (mg.L ⁻¹) à 25°C
Naphtalène	91-20-3	C ₁₀ H ₈		128,2	3,3 ^a	31,7 ^e
Acénaphtylène	208-96-8	C ₁₂ H ₈		152,2	3,9 ^a	3,93 ^e
Acénaphtène	83-32-9	C ₁₂ H ₁₀		154,2	3,9 ^a	3,93 ^f
Fluorène	86-73-7	C ₁₃ H ₁₀		166,2	4,2 ^a	1,98 ^f
Anthracène	120-12-7	C ₁₄ H ₁₀		178,2	4,7 ^b	7,3.10 ^{-2 f}
Phénanthrène	85-01-8	C ₁₄ H ₁₀		178,2	4,6 ^b	1,29 ^f
Fluoranthène	206-44-0	C ₁₆ H ₁₀		202,2	5,2 ^b	2,6.10 ^{-1 f}
Pyrène	129-00-0	C ₁₆ H ₁₀		202,2	4,9 ^a	1,3.10 ^{-1 f}
Benzo(a)anthracène	56-55-3	C ₁₈ H ₁₂		228,3	5,9 ^b	5,7.10 ^{-3 e}
Chrysène	218-01-9	C ₁₈ H ₁₂		228,3	5,8 ^b	2,0.10 ^{-3 f}
Benzo(a)pyrène	50-32-8	C ₂₀ H ₁₂		252,3	6,1 ^b	3,8.10 ^{-3 f}
Benzo(b+j)fluoranthène	205-99-2 et 205-82-3	C ₂₀ H ₁₂		252,3	B(b)f : 5,8 ^c B(j)f : 6,1 ^d	B(b)f : 1,5.10 ^{-3 g*} B(j)f : 2,5.10 ^{-3 g*}
Dibenzo(a,h)anthracène	53-70-3	C ₂₂ H ₁₄		278,3	6,5 ^b	2,5.10 ^{-3 h}

TABLEAU 1.5 – Propriétés physico-chimiques des HAP ciblés dans cette étude. (suite)

Nom	CAS	Formule brute	Structure	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Log K _{OW}	Solubilité dans l'eau (mg.L ⁻¹) à 25°C
Benzo(k) fluoranthène	207-08-9	C ₂₀ H ₁₂		252,3	6,1 ^b	8,0.10 ⁻⁴ g [*]
Benzo(g,h,i) pérylène	191-24-2	C ₂₂ H ₁₂		276,3	6,2 ^b	2,6.10 ⁻⁴ f [*]
Indéno(1,2,3-cd)pyrène	193-39-5	C ₂₂ H ₁₂		276,3	6,7 ^c	1,9.10 ⁻⁴ g [*]

* : Solubilité calculée ou estimée pour une température non indiquée;

^a Hansch et al., 1995; ^b De Maagd et al., 1998; ^c Wang et al., 1986; ^d US EPA, Estimation Program Interface (EPI) Suite, ver.4.11, nov 2012. Disponible à l'adresse : <https://www.epa.gov/tsca-screening-tools>;

^e Lee et al., 1992; ^f Mackay & Shiu, 1977; ^g Wise et al., 1981; ^h Means et al., 1980

Les HAP peuvent avoir des origines multiples (MOJIRI et al., 2019) :

- (a) **pyrolytique**, issus de phénomènes de combustion incomplète de la matière organique;
- (b) **pétrogénique**, associés à des processus de diagénèse
- (c) ou **diagénétique**, issus d'une transformation lente de matière organique par des organismes vivants.

Au-delà de 3 trois origines, il est important de remarquer que les HAP peuvent être à la fois issus de procédés **naturels** comme des feux de forêts, des éruptions volcaniques ou des processus de biogénèse ou **anthropiques**, comme la combustion incomplète des combustibles fossiles ou l'incinération de déchets ménagers (MOJIRI et al., 2019).

La majorité des HAP issus d'activités anthropiques sont d'origine pyrolytique (LIU et al., 2005; LIMA et al., 2005; VANE et al., 2017), principalement suite à la combustion incomplète de combustibles fossiles. Ils sont émis dans le compartiment atmosphérique, circulent sur des distances conséquentes, dans de multiples directions et se déposent à la surface des sols et eaux (LIU et al., 2005). Ces composés sont particulièrement ubiquitaires (LIMA et al., 2005). Par un dépôt direct ou le lessivage des sols et des chaussées, ils se retrouvent aisément dans les milieux aquatiques. A la suite d'accidents liés à l'exploitation et le transport du pétrole, les HAP pétrogéniques peuvent se retrouver ponctuellement et en abondance dans les écosystèmes sur les sols, sédiments et dans les eaux. Dans leur majorité, les HAP restent peu volatils, peu solubles dans l'eau, ils vont ainsi tendre à s'associer par adsorption et absorption à la matière organique et s'accumuler dans les fractions particulières (FERNANDES et al., 1997; LUO et al., 2007) puis rejoindre par dépôt le compartiment

sédimentaire (MAGI et al., 2002). Ces composés chimiques appartiennent aux POP, polluants organiques persistants, ils sont donc particulièrement persistants dans l'environnement surtout dans les sols et sédiments (NIKOLAOU et al., 2009). Ces compartiments agissent comme des réservoirs de HAP qui en fonction des conditions environnementales peuvent devenir des sources de HAP (VAGGE et al., 2018).

1.2.4.1.2 Les polychlorobiphényles

Les polychlorobiphényles (PCB) sont des composés **organochlorés polycycliques chlorés** issu de la chloration du biphényle. Cette famille de composés possède une structure générique du type $C_{12}H_{10(n+m)}Cl_{n+m}$ où n et m sont compris entre 1 et 10 (Figure 1.13), réunissant au total 209 congénères potentiels. Pratiquement, ce sont près de 150 congénères qui peuvent réellement être synthétisés et 130 se retrouvent dans des mélanges industriels.

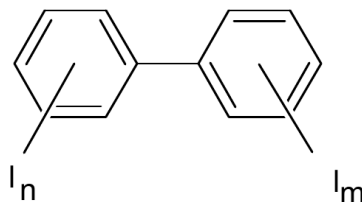


FIGURE 1.13 – Structure moléculaire des PCB.

Ces composés exclusivement d'origine anthropique furent intensément synthétisés et commercialisés entre les années 1930 et 1970 (DAVIS et al., 2007). Ce sont des molécules de hauts poids moléculaires, avec une masse moléculaire comprise entre 188 à 439,7 $g \cdot mol^{-1}$. Ils présentèrent des propriétés d'intérêt industriel majeur : inertes vis-à-vis des acides et des bases, inflammabilité et des propriétés électriques remarquables. Les propriétés de chaque congénère vont varier en fonction de leur degré de chloration. Ils furent commercialisés sous la forme de mélange complexe pouvant aller jusqu'à 90 congénères. Ces caractéristiques en font des composés de choix dans la fabrication de transformateurs électriques, compensateurs, lubrifiants, composants d'huiles et autres peintures (entre autres) (WILLIAMS & BENOIT, 1979 ; ANDERSSON et al., 2004).

Leur production fut massive, dépassant sur leur période d'exploitation la centaine millions de kilogrammes dans certains pays. Une partie non négligeable de ces PCB ainsi produits se retrouva légalement, par l'absence de contrôle et de régulation, ou illégalement dans les écosystèmes naturels (BORJA et al., 2005).

La toxicité des PCB varie en fonction des congénères, elle augmentera avec le poids moléculaire du composé, donc avec le nombre d'atomes de chlore. Au sein de la famille des PCB, un sous-groupe d'intérêt peut être distingué, les **PCB de type dioxine (PCB-DL)** qui par leur configuration plane peuvent être rapprochés aux dioxines. Ils sont caractérisés par une grande toxicité.

TABLEAU 1.6 – Propriétés physico-chimiques des filtres PCB ciblés dans cette étude.

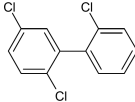
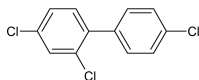
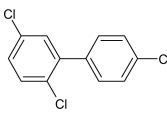
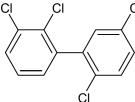
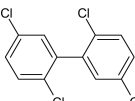
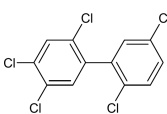
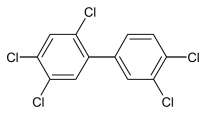
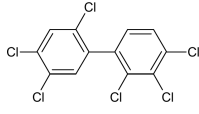
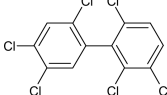
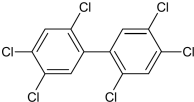
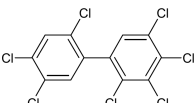
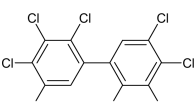
Congénère	CAS	Formule brute	Structure	PCB indicateurs	PCB-DL	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Log K _{OW}	Solubilité dans l'eau (mol.L ⁻¹)
PCB 18	37680-65-2	C ₁₂ H ₇ Cl ₃		-	Oui	257,5	5,48 ^a	5,1.10 ⁻¹ ^e
PCB 28	7012-37-5	C ₁₂ H ₇ Cl ₃		Oui	-	257,5	5,62 ^b	1,2.10 ⁻¹ ^e
PCB 31	16606-02-3	C ₁₂ H ₇ Cl ₃		-	-	257,5	5,69 ^b	1,4.10 ⁻¹ ^{f*}
PCB 44	41464-39-5	C ₁₂ H ₆ Cl ₄		-	-	292,0	5,81 ^c	8,0.10 ⁻² ^g
PCB 52	35693-99-3	C ₁₂ H ₆ Cl ₄		Oui	-	292,0	6,09 ^b	1,7.10 ⁻¹ ^g
PCB 101	37680-73-2	C ₁₂ H ₅ Cl ₅		Oui	-	326,4	5,68 ^a	6,8.10 ⁻³ ^e
PCB 118	31508-00-6	C ₁₂ H ₅ Cl ₅		Oui	-	326,4	7,12 ^b	1,3.10 ⁻² ^{f*}
PCB 138	35065-28-2	C ₁₂ H ₄ Cl ₆		Oui	-	360,9	7,44 ^a	7,3.10 ⁻³ ^{f*}
PCB 149	38380-04-0	C ₁₂ H ₄ Cl ₆		-	-	360,9	7,28 ^b	NA

TABLEAU 1.6 – Propriétés physico-chimiques des filtres PCB ciblés dans cette étude. (suite)

Congénère	CAS	Formule brute	Structure	PCB indicateurs	PCB-DL	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Log K _{OW}	Solubilité dans l'eau (mol.L ⁻¹)
PCB 153	35065-27-1	C ₁₂ H ₄ Cl ₆		Oui	-	360,9	6,34 ^d	8,6.10 ⁻⁴ ^e
PCB 180	35065-29-3	C ₁₂ H ₃ Cl ₇		Oui	-	395,3	7,72 ^c	3,8.10 ⁻³ ^{f*}
PCB 194	35694-08-7	C ₁₂ H ₃ Cl ₈		-	-	395,3	8,68 ^c	1,2.10 ⁻⁴ ^{h**}

NA (Not Available) : information non disponible ;

* : Solubilité calculée ou estimée pour une température de 20°C ; ** : Solubilité calculée ou estimée pour une température de 22°C ; ^a Rapaport & Eisenreich, 1984 ; ^b Hansch et al., 1995 ; ^c Base de donnée U.S. EPA DSSTox, disponible à l'adresse : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/EPA%20DSSTox> ; ^d Karickhoff et al., 1979 ; ^e Dunnivant & Elzerman, 1988 ; ^f Murphy et al., 1987 ; ^g Billington et al., 1988 ; ^h Opperhulzen et al., 1988

A partir de 1970, leur production et leur présence dans l'environnement commencent respectivement à être régulées (CHEVREUIL et al., 1998). Leur dangerosité ne cessa d'alerter aboutissant en 1982, par la sélection de 7 PCB dits **indicateurs** à rechercher en priorité par le Bureau Communautaire de Référence de la Commission européenne (INERIS, 2012). Ces 7 PCB représenteraient 80% des PCB totaux, ils sont détaillés dans le tableau 1.6 (INERIS, 2012). Remarquons que parmi cette sous-sélection, le **PCB 118** est le seul à appartenir à la catégorie des PCB-DL. Ce n'est d'ailleurs pas pour son abondance que ce congénère est suivi mais pour son importante toxicité. En France, nous avons abouti à une complète interdiction de production et commercialisation des PCB dès 1987.

Les PCB sont des composés extrêmement hydrophobes, leurs log K_{ow} sont compris entre 10⁴ et 10⁶). Ils s'adsorbent ainsi très rapidement aux particules en suspension et aux sédiments, en particulier ceux présentant une teneur importante en matières organiques (CHEVREUIL et al., 1987 ; CHEVREUIL et al., 1998). De plus, ils sont liposolubles et tendent aisément à s'accumuler dans les organismes vivants (principalement dans les lipides) et le long des réseaux trophiques par bioamplification (TROWBIDGE & SWACKHAMER, 2001 ; DAVIS et al., 2007). De par leur hydrophobicité et leur grande stabilité, les PCB présentent une exceptionnelle persistance environnementale (DAVIS et al., 2007), ils sont naturellement identifiés comme des POP.

Ils sont retrouvés dans tous les environnements, l'air, le sol, l'eau, les sédiments et les denrées alimentaires (WILLIAMS & BENOIT, 1979; DAVIS et al., 2007; ANDERSSON et al., 2004).

1.2.4.1.3 Les pesticides organochlorés

Les **pesticides**, aussi nommés **produits phytosanitaires**, sont des substances employées pour lutter contre des organismes jugés nuisibles. Ils sont utilisés depuis l'Antiquité, néanmoins, c'est au XX^{ème} siècle avec l'essor de la chimie organique et de synthèse que leur production et utilisation connurent une impulsion remarquable.

Les pesticides sont très majoritairement employés en agriculture, néanmoins, jusqu'à 10 % du tonnage des pesticides commercialisés le sont pour l'entretien de jardins publics, privées ou encore des infrastructures routières. Derrière l'appellation générique pesticide, on retrouve un nombre important de substances actives, mais aussi de formulation et productions commerciales. A titre d'exemple, la Commission européenne recense à la date de juillet 2019, 477 substances actives approuvées. Ces produits sont classiquement regroupés en fonction de la cible du composé ou bien par famille de composés pour les substances actives. On distingue ainsi les herbicides, des insecticides, des bactéricides et des fongicides. Au sein de l'UE (28 pays), les ventes de pesticides atteignirent près de 330 000 tonnes en 2017, valeurs qui d'ailleurs en augmentation, elle était de 315 000 tonnes en 2011. Cette vente ainsi que l'emploi de pesticides sont hautement hétérogène d'un pays à l'autre de l'UE. La France figure parmi les plus grands consommateurs de pesticides d'Europe, auprès de l'Espagne et l'Allemagne⁸.

Les pesticides sont très fréquemment appliqués en quantités exagérées (CHÈVRE & ERKMAN, 2017), entraînant leur dispersion dans les écosystèmes naturels. Par lessivage des sols agricoles, ces composés se retrouvent aisément dans les milieux aquatiques aussi bien dans les eaux de surface que souterraines et jusque dans les eaux de consommation (LE COADOU et al., 2017). Or, ces composés sont par essence des substances toxiques déployées afin d'atteindre à l'intégrité vitales des organismes ciblés (CHÈVRE & ERKMAN, 2017). Leurs mécanismes d'action ne sont pas forcément spécifiques. Une fois dans l'environnement, ils peuvent directement impacter directement ou indirectement des organismes non ciblés initialement tels que les microorganismes (DELORENZO et al., 2001), le phyto- et zooplancton (FLEEGER et al., 2003) ou des organismes à des niveaux trophiques supérieurs (MAISANO et al., 2016).

Dans le cadre de cette thèse, nous nous focalisons sur une liste réduite de substances constituées principalement de composés connus historiquement pour les risques environnementaux ou sanitaires qu'ils représentent. Ces substances sont détaillées dans le tableau 1.7.

8. eurostat, l'Office statistique de l'Union européenne. Disponible à : <https://ec.europa.eu/eurostat/fr/home>. Consulté en septembre 2021.

TABLEAU 1.7 – Propriétés physico-chimiques des pesticides ciblés dans cette étude.

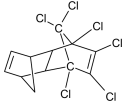
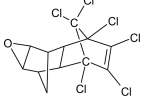
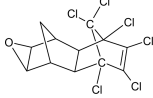
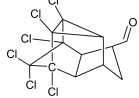
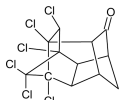




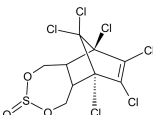
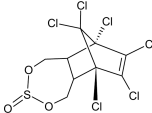
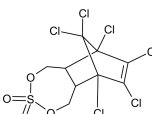
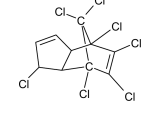
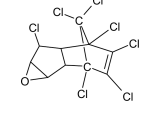
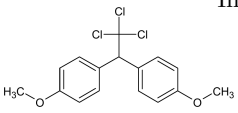
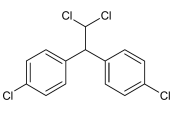
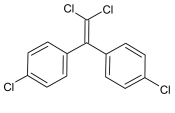
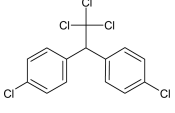
Nom	Abbréviation	CAS	Formule brute	Structure	Commentaire	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Log K _{OW}	Solubilité dans l'eau (mg.L ⁻¹)
Aldrine		309-00-2	C ₁₂ H ₈ Cl ₆		Insecticide	364,9	6,50 ^a	0,20 ^d
Dieldrine		60-57-1	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O		Insecticide	380,9	5,40 ^b	0,25 ^d
Endrine		72-20-8	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O		Insecticide	380,9	5,19 ^b	0,26 ^e
Endrine aldehyde		7421-93-4	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O		Métabolite de l'endrine	380,9	NA	NA
Endrine ketone		53494-70-5	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O		Métabolite de l'endrine	380,9	NA	NA
α-hexachloro-cyclohexane <i>α-HCH</i>		319-84-6	C ₆ H ₈ Cl ₆		Isomère du lindane	290,8	3,8 ^a	2,0 ^e
β-hexachloro-cyclohexane <i>β-HCH</i>		319-85-7	C ₆ H ₈ Cl ₆		Isomère du lindane	290,8	3,78 ^a	0,24 ^e
δ-hexachloro-cyclohexane <i>δ-HCH</i>		319-86-8	C ₆ H ₈ Cl ₆		Isomère du lindane	290,8	4,14 ^a	31,4 ^e
Lindane <i>γ-hexachloro-cyclohexane</i> <i>γ-HCH</i>		58-89-9	C ₆ H ₈ Cl ₆		Insecticide	290,8	3,72 ^a	7,8 ^e
Endosulfan I <i>α-endosulfan</i>		959-98-8	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S		Insecticide	406,9	3,83 ^a	0,53 ^e

TABLEAU 1.7 – Propriétés physico-chimiques des pesticides ciblés dans cette étude. (suite)

Nom	Abbréviation	CAS	Formule brute	Structure	Commentaire	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Log K _{OW}	Solubilité dans l'eau (mg.L ⁻¹)
Endosulfan II	<i>β</i> -endosulfan	33213-65-9	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S		Insecticide	406,9	3,62 ^a	0,28 ^e
Endosulfan sulfate		1031-07-8	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₄ S		Métabolite de l'endosulfan	422,9	3,66 ^a	NA
Heptachlore		76-44-8	C ₁₀ H ₅ Cl ₇		Insecticide	373,3	6,10 ^c	5,6.10 ⁻² ^f
Heptachlore epoxide		1024-57-3	C ₁₀ H ₅ Cl ₇ O		Métabolite de l'heptachlore	389,3	NA	0,35 ^e
Méthoxychlore		72-43-5	C ₁₆ H ₁₅ Cl ₃ O ₂		Insecticide	345,6	5,08 ^a	0,10 ^e
Dichlorodiphényldichloroéthane	<i>DDD</i>	72-54-8	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₄		Métabolite du DDT	320,0	6,22 ^b	2,0.10 ⁻² ^e
Dichlorodiphényldichloroéthylène	<i>DDE</i>	72-55-9	C ₁₄ H ₈ Cl ₄		Métabolite du DDT	318,0	6,96 ^b	1,4.10 ⁻² ^e
Clofénate	Dichlorodiphényltrichloroéthane <i>DDT</i>	50-29-3	C ₁₄ H ₉ Cl ₅		Insecticide Acaricide	354,5	6,91 ^a	2,6.10 ⁻² ^e

NA (Not Available) : information non disponible ; ^a Hansch et al., 1995 ; ^b De Bruijn et al., 1989 ;

^c Simpson et al., 1995 ^d Mackay & Leinonen, 1975 ; ^e Weil et al., 1974 ; ^f IARC, 1973

Parmi les composés ciblés, 5 d'entre eux (10 si l'on compte leurs métabolites), l'aldrine, le dieldrine, l'endrine, l'heptachlore et le DDT font partie des « 12 vilains » cités précédemment. Le lindane et deux de ses isomères

(α et β) ainsi que l'endosulfan (α et β) furent introduits à la liste des POP de la convention de Stockholm en 2009. Assez logiquement, ces composés sont actuellement en majorité interdits en France et en Europe. Le méthoxychlore n'appartient pas à cette liste des 12 ou son extension. Pourtant, ce composé présente une toxicité remarquable et s'accumule lui aussi le long des réseaux trophiques. Ainsi, il fut lui aussi interdit à l'emploi en Europe en 2002.

Ces pesticides organochlorés furent progressivement remplacés par des substances moins dangereuses au moins théoriquement. Néanmoins, par leur persistance, ces substances sont donc encore fréquemment détectées, parfois à distance des zones théoriques d'émissions (VERGARA et al., 2019). Leur suivi est donc encore de rigueur.

1.2.4.2 Les contaminants organiques émergents

Pour rappel, le terme de **micropolluant émergent** fait référence à des composés qui ne sont actuellement pas compris dans les réglementations et fréquemment non pris en compte dans les programmes de surveillance environnementale. Depuis quelques années, cette micropollution émergente soulève des préoccupations majeures. En lien avec l'augmentation de la production et utilisation de substances chimiques ainsi qu'une alarmante augmentation de leur détection dans les écosystèmes par l'amélioration de la surveillance et des méthodes et outils d'analytiques (GAVRILESCU et al., 2015). Peu d'informations sont actuelles disponibles sur ces composés, qu'il s'agisse de leurs potentiels effets nocifs ou encore de leur dynamisme environnemental.

1.2.4.2.1 Les filtres UV

Les **filtres UV** aussi appelés **écrans solaires** sont des molécules présentant la capacité d'absorber ou de réfléchir un rayonnement UV. Cette catégorie de molécules regroupe un nombre hétéroclite de composés pouvant être de nature organique et/ou inorganique. Les filtres UV les plus couramment employés correspondent à une cinquantaine de molécules, réunis au sein d'une dizaine de familles de composés différentes (RAMOS et al., 2015). Généralement, ces composés ont en commun d'être constitués au minimum d'un cycle aromatique connecté à une chaîne latérale présentant un degré variable d'insaturation.

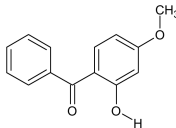
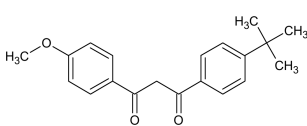
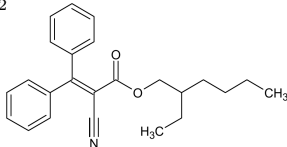
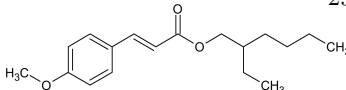
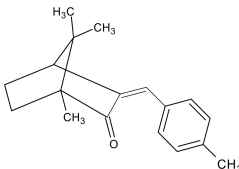
Dans le cadre de cette étude, nous nous intéresserons spécifiquement à 7 composés organiques réunis au sein de 6 familles (Tableau 1.8).

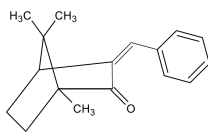
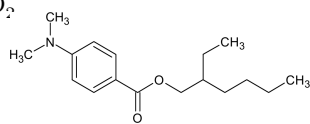
L'emploi de filtres UV n'a de cesse d'augmenter, il est à mettre en parallèle avec l'augmentation de la communication et la prévention du cancer de la peau, de même que la pratique intensive et accrue du bronzage. Les écrans UV peuvent entrer dans le milieu aquatique directement suite aux activités de baignade ou bien par le biais du réseau des eaux usées (RAMOS et al., 2015). Les stations de traitement des eaux usées n'ont pas été conçues afin d'éliminer ces composés et en fonction du type de traitement, elles peuvent présenter de relatifs faibles taux d'abattement (TSUI et al., 2014).

De par leur relative faible solubilité dans l'eau et leur affinité pour matrice organique (important $\log K_{ow}$), ces composés tendent à s'adsorber rapidement. De ce fait, ils peuvent se bioaccumuler ou se biomagnifier le long des réseaux trophiques (GAGO-FERRERO et al., 2015).

S'associant préférentiellement avec les particules en suspension puis chutant avec ces dernières, ils s'accablent dans les écosystèmes, préférentiellement dans le compartiment sédimentaire (RAMOS et al., 2015).

TABLEAU 1.8 – Propriétés physico-chimiques des filtres UV ciblés dans cette étude.

Nom	Abbré- viation	CAS	Formule brute	Structure	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Log K _{OW}	Solubilité dans l'eau (mol.L ⁻¹)
<i>Dérivé du benzophénone</i>							
Oxybenzone	B3	131-57-7	C ₁₄ H ₁₂ O ₃		228,2	3,8 ^a	68,6 ^e
<i>Dérivé du dibenzoylméthane</i>							
Avobenzone	BM- DBM	70356-09-1	C ₂₀ H ₂₂ O ₃		310,4	4,5 ^a	1,5 ^e
<i>Dérivé du crylène</i>							
Octocrylène	OC	6197-30-4	C ₂₄ H ₂₇ NO ₂		361,5	6,9 ^a	NA
<i>Dérivé du cinnamate</i>							
Octinoxate	EHMC	5466-77-3	C ₁₈ H ₂₆ O ₃		290,4	5,8 ^a	4,1.10 ^{-2d*}
<i>Dérivé du camphor</i>							
Enzacamène	4MBC	36861-47-9	C ₁₈ H ₂₂ O		254,4	4,9 ^b	1,3 ^{b**}

3-Benzylidene camphor	3BC	15087-24-8	C ₁₇ H ₂₀ O		240,3	5,4 ^c	6,9.10 ⁻¹ ^c
<i>Dérivé de l'acide p-amino-benzoïque</i>							
Padimate-O	OD-PABA	21245-02-3	C ₁₇ H ₂₇ NO ₂		277,4	5,8 ^d	5,4.10 ⁻¹ ^d

NA (Not Available) : information non disponible; * : Solubilité calculée ou estimée à 24°C;

** : Solubilité calculée ou estimée à 20°C; ^a Sharifan et al., 20016; ^b Tampucci et al., 2018;

^c ECHA, 2016; ^d <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> consulté le 17 septembre 2019; ^e EPIWIN version 3.12

1.2.4.2.2 Les muscs synthétiques

Les muscs synthétiques sont des molécules organiques complexes. Elles sont massivement employées dans l'industrie de la parfumerie en tant qu'additifs dans un nombre conséquent de produits tels que les parfums, les produits cosmétiques (comme les lotions ou écrans solaires), les lessives et autres détergents. On distingue 4 catégories de muscs synthétiques : (i) les **nitro-muscs**, qui présentent au minimum un groupement nitrate attaché à un noyau benzène, (ii) les **muscs polycycliques**, présentant au minimum deux cycles aromatiques, (iii) les **muscs macrocycliques**, formés d'une grande structure cyclique (supérieure à 6 atomes), (iv) et les **alicycliques**, qui sont simultanément aliphatiques et cycliques.

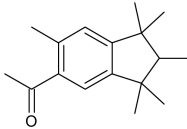
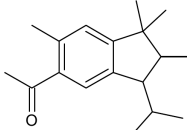
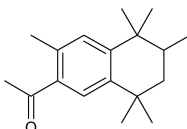
Les premiers muscs synthétisés furent des nitro-muscs à la fin du XIX^{ème} siècle. Par leur fort pouvoir olfactif, ils permirent de réduire drastiquement le coût des parfums et furent ainsi employés et consommés massivement. Ces nitro-muscs présentent un important pouvoir de fixation, mais sont aussi très persistants. Ainsi, les industriels ont progressivement réduit l'emploi de nitro-muscs et leur ont préféré d'autres composés en substitution comme les **muscs polycycliques**. Actuellement, les nitro-muscs entrent uniquement dans la composition de certains parfums à des doses excessivement réduites (BESTER, 2009). La production actuelle est toujours représentée principalement par des muscs polycycliques, dont surtout le galaxolide (HHCB) et le tonalide (AHTN). Ce sont d'ailleurs les composés les plus fréquemment rencontrés dans les matrices environnementales (SUMNER et al., 2010; HUANG et al., 2016). Les muscs macrocycliques sont en pleine expansion, ils présentent un risque environnemental moindre par rapport aux autres familles de muscs. Néanmoins, leur utilisation reste encore parcimonieuse puisque que leur coût de production reste supérieur à celui des polycycliques. Les muscs alicycliques sont encore très peu connus, leur emploi est bien plus récent que pour les autres muscs. Cependant, ils semblent pour l'heure être bien plus biodégradables que les autres familles de muscs.

De par la faible utilisation actuelle des muscs macrocycliques et alicycliques, nous ne nous étendrons pas plus longuement à leur sujet. Ainsi, dans le cadre de ce projet de thèse, nous nous focaliserons sur les deux premières catégories précédemment citées (Tableau 1.9).

TABLEAU 1.9 – Propriétés physico-chimiques des muscs synthétiques ciblés dans cette étude.

Nom	Abbrévia- tion	CAS	Formule brute	Structure	Famille de composés	Masse mo- laire (g.mol ⁻¹)	Log K _{OW}	Solubilité dans l'eau (mol.L ⁻¹)
Musc ambrette	MA	83-66-9	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O ₅		Nitro- aromatique	268,3	4,0 ^a	0,8 ^a
Musc moskène	MM	116-66-5	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₅		Nitro- aromatique	278,3	4,4 ^a	4,6.10 ^{-2 a}
Musc cétone	MK	81-14-1	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₅		Nitro- aromatique	294,3	4,3 ^b	1,9 ^b
Musc xylène	MX	81-15-2	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₆		Nitro- aromatique	268,3	4,9 ^b	0,5 ^b
Célestolide	ADBI	13171-00-1	C ₁₇ H ₂₄ O		Polycyclique	244,3	6,6 ^b	1,5.10 ^{-2 b}
Galaxolide	HHCB	1222-05-5	C ₁₇ H ₂₄ O		Polycyclique	258,4	5,9 ^b	1,8 ^b
Galaxolide lactone	HHCB-L	1222-05-5	C ₁₈ H ₂₄ O ₂		Polycyclique	272,4	NA	NA

TABLEAU 1.9 – Propriétés physico-chimiques des muscs synthétiques ciblés dans cette étude. (suite)

Nom	Abbrévia- tion	CAS	Formule brute	Structure	Famille de composés	Masse mo- laire (g.mol ⁻¹)	Log K _{OW}	Solubilité dans l'eau (mol.L ⁻¹)
Phantolide	AHMI	15323-35-0	C ₁₇ H ₂₄ O		Polycyclique	244,3	6,7 ^b	2,7.10 ⁻² ^b
Tonalide	AHTN	1506-02-1	C ₁₈ H ₂₆ O		Polycyclique	258,4	5,7 ^b	1,3 ^b
Traseolide	ATII	68140-48-7	C ₁₈ H ₂₆ O		Polycyclique	258,4	8,1 ^b	8,5.10 ⁻² ^b

NA (Not Available) : information non disponible ; ^a Schramm et al., 1996 ; ^b Chase et al., 2012

Différents travaux ont démontré la présence ubiquitaire des muscs synthétiques dans l'environnement (CAVALHEIRO et al., 2013 ; HUANG et al., 2016 ; CUNHA et al., 2018 ; RIMKUS et al., 1999). Ils peuvent rejoindre les environnements aquatiques par de multiples voies, comme par les STEU suite aux douches que nous prenons quotidiennement ou lorsque nous nettoyons nos intérieurs. La majorité de ces composés sont liposolubles, ils vont s'accumuler dans les sédiments ou dans les fractions particulières ainsi que le long des réseaux trophiques. Or, ces composés peuvent être bio-transformés et produire des composés secondaires encore plus dangereux que la molécule mère (RIMKUS et al., 1999).

En ce qui concerne le risque environnemental, différents nitro-muscs ont d'ores et déjà été interdit dans la composition des produits cosmétiques par l'UE, dont le musc ambrette et le musc moskène⁹. Le musc xylène est considéré comme une substance dangereuse et son emploi dans le cadre de l'UE est soumis à réglementation depuis 2011¹⁰. Le galaxolide et le tonalide, les muscs polycycliques les plus employés, sont sous le projecteur des autorités de veille sanitaire sans que pour l'heure une réelle réglementation ne se soit mise en place.

9. Article 1 de l'arrêté du 6 février 2001 fixant la liste des substances qui ne peuvent entrer dans la composition des produits cosmétiques. JORF n°46 du 23 février 2001.

10. Règlement n° 143/2011 du 17/02/2011 de l'annexe XIV du règlement (CE) n° 1907/2006 (règlement REACH). Cette annexe liste les substances dont l'utilisation est soumise à autorisation dans l'UE.

1.2.4.2.3 Les alkylphénols

Cette famille comme bien d'autres déjà citées est composée d'une multitude de molécules, exclusivement d'origine anthropique. Les alkylphénols (AP) sont caractérisés par la présence d'un alkyl associé un groupement phénol (noyau benzène et un groupement $-OH$). Chaque alkylphénol se distingue par la longueur de sa chaîne carbonée, ces éventuelles ramifications ou encore la nature des groupements qui lui sont associées. On peut cependant distinguer deux groupes majeurs de composés : les **octyl- et nonylphénols**, composés d'une chaîne carbonée comptant respectivement 8 et 9 carbones. Ces groupes correspondent au regroupement d'isomères de formule générale $C_8H_{17}.C_6H_4(OH)$ pour les octylphénols et $C_9H_{19}.C_6H_4(OH)$ pour les nonylphénols. Ces groupes sont caractérisés par un représentant, correspondant aux molécules les plus commercialisées. Il s'agit du **4-nonylphénol** et du **4-tert-octylphénol**, l'unique octylphénol commercialisé. Dans le cadre de ce travail de thèse, nous nous focaliserons sur ces groupes majeurs et surtout leurs représentants (Tableau 1.10).

De manière générale, les alkylphénols sont produits à large échelle et entrent dans la composition de produits très variés comme des agents tensioactifs, des résines, etc. Ils sont aussi utilisés comme intermédiaires réactionnels, par synthétiser par exemple des alkylphénols éthoxylés (APEO) (YING et al., 2002). Or ces substances éthoxylés ne sont pas stables dans l'environnement, ils se dégradent rapidement en alkylphénols et ce sont ces composés éthoxylés qui sont à l'origine de la présence d'octyl- et de nonylphénols dans l'environnement (MAO et al., 2012).

Il s'agit de molécules peu solubles dans l'eau et leur $\log K_{OW}$ est approximativement de 4 (Tableau 1.10). On est donc plutôt en présence de composés lipophiles, avec une affinité plus marquée pour les fractions particulaires et sédimentaires. Il s'agit de la même manière de composés persistants (MAO et al., 2012).

TABLEAU 1.10 – Propriétés physico-chimiques des alkylphénols ciblés dans cette étude.

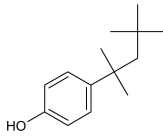
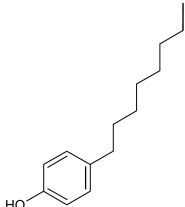
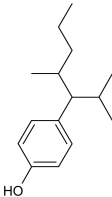
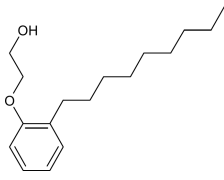
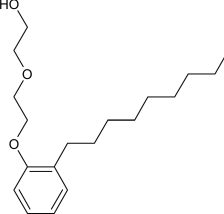
Nom	Abbré- viation	CAS	Formule brute	Structure	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Log K _{OW}	Solubilité dans l'eau (mol.L ⁻¹)
4-tert- Octylphénol	4tOP	140-66-9	C ₁₄ H ₂₂ O		206,33	NA	NA
4-n- Octylphénol	4nOP	1806-26-4	C ₁₄ H ₂₂ O		206,33	4,12 ^a	12,6 ^b

TABLEAU 1.10 – Propriétés physico-chimiques des alkylphénols ciblés dans cette étude. (suite)

Nom	Abbré- viation	CAS	Formule brute	Structure	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Log K _{OW}	Solubilité dans l'eau (mol.L ⁻¹)
Nonylphénol	NP	104-40-95	C ₁₅ H ₂₄ O		220,36	4,48 ^a	5,4 ^b
Nonylphénol monoéthoxylé	NPEO1	27986-36-3	C ₁₇ H ₂₈ O ₁		264,40	4,17 ^a	3,0 ^b
Nonylphénol diéthoxylé	NPEO2	27176-93-8	C ₁₉ H ₃₂ O ₃		308,46	4,21 ^a	3,4 ^b

NA (Not Available) : information non disponible ; ^a Ahel & Ginger, 1993a ; ^b Ahel & Ginger, 1993b

Autrement, les alkylphénols sont considérés comme des composés toxiques, ce sont notamment des perturbateurs endocriniens avérés (YING et al., 2002). De plus, le taux d'abattement de ces composés par les STEU est relativement faible, il n'existe pas de traitement réellement dédié à ces composés. C'est pourquoi l'INERIS a démontré en 2006 que dans les eaux traitées, 65% des alkylphénols et/ou leurs métabolites sont encore présents et donc se retrouve dans l'environnement après traitement (INERIS, 2006). Rien d'étonnant alors de voir que les octylphénols comme les nonylphénols sont classés comme Substances Prioritaires par la DCE (Directive 2013/39/UE¹¹). Les octylphénols et nonylphénols comme les éthoxylates de nonylphénols et leurs dérivés sont inscrits sur la liste OSPAR (*Oslo Paris Convention*, Convention pour la protection du milieu marin de l'Atlantique du Nord-Est) de composés chimiques devant faire l'objet de mesures prioritaires. Les concentrations de ces composés dans le milieu marin doivent être progressivement réduites. Les rejets de nonylphénols auraient dû être réduits à zéro pour l'année 2020 (OSPAR COMMISSION, 2009).

11. Directive **2013/39/UE** du Parlement européen et du Conseil du 12/08/2013 modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau.

1.2.4.2.4 Les résidus pharmaceutiques

Cette catégorie de contaminants se démarque largement des précédentes déjà citées par son étendue. Bien que les pesticides représentent un groupe d'une grande envergure, il n'est rien face aux **résidus pharmaceutiques**. Comme le nom l'indique, les résidus pharmaceutiques sont des composés organiques utilisés dans les traitements pharmaceutiques à la fois **humains** et **vétérinaires**. Les composés pharmaceutiques font partie des composés émergents dont l'emploi et donc la détection dans l'environnement est en nette croissance depuis quelques dizaines d'années (LUO et al., 2014; GAVRILESCU et al., 2015; PETRIE et al., 2016). Les produits pharmaceutiques sont synthétisés dans le but d'être biologiquement actif. Ils ciblent des voies métaboliques qui peuvent être présentes chez d'autres espèces une fois dans l'environnement. Pour certains composés comme les antibiotiques ou les hormones, l'impact sur les biotes est évident. Mais plus généralement, la toxicité chronique et les effets secondaires des produits pharmaceutiques et de leurs métabolites restent assez méconnus (BRAUSCH et al., 2012).

Dans le but d'obtenir une vision générale, de multiples catégories de résidus pharmaceutiques ont été suivies dans le cadre de ce projet de thèse (Tableau 1.11). Néanmoins, une sur-représentation des antibiotiques peut être notée, de par l'impact conséquent évident de cette sous-catégorie de résidus pharmaceutiques.

Ces composés pharmaceutiques peuvent être déversés dans l'environnement lors de leur fabrication (émission généralement non volontaire lors des procédés de fabrication, purification, transport et stockage) ou suite à l'usage et l'excrétion par les populations humaines ou animales (émission de la molécule mère lorsque le composé n'est pas entièrement dégradé par l'organisme ou bien de métabolites produits lors du transit dans l'organisme). Pour les résidus vétérinaires, les voies d'entrée dans les écosystèmes sont bien moins linéaires. Ils sont principalement émis dans les sols via les excréctions animales. Par ruissellement ou en enfouissement, ces résidus vétérinaires peuvent rejoindre respectivement les eaux de surface et les eaux souterraines (OBIMAKINDE et al., 2017). Dans le cadre de la fabrication ou de l'emploi de produits pharmaceutiques par les populations humaines, les résidus pharmaceutiques émis transitent principalement par les eaux de STEU. Le type de composé ainsi que le type de traitement tertiaire dans les STEU sont deux facteurs importants influençant le taux d'abattement des résidus pharmaceutiques. A ce titre de grandes inégalités existent, certains composés sont très bien éliminés présentant des taux d'abattement généraux supérieurs à 70% comme l'ibuprofène ou la tétracycline (antibiotique). A l'inverse, d'autres résidus sont peu éliminés, leurs taux d'abattements sont généralement inférieurs à 10%, c'est le cas pour la carbamazépine (antiépileptique) ou le triméthoprime (antibiotique) (GAVRILESCU et al., 2015). Par l'extrême hétérogénéité des taux d'élimination de ces composés dans les STEU, le suivi et de la régulation des composés pharmaceutiques dans les milieux aquatiques s'avèrent être des enjeux majeurs dans la protection des espèces aquatiques et le maintien de l'intégrité des écosystèmes.

TABLEAU 1.11 – Propriétés physico-chimiques des résidus pharmaceutiques ciblés dans cette étude.

Nom	CAS	Formule brute	Catégorie	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Log K _{OW}	Solubilité dans l'eau (mol.L ⁻¹)
Acétaminophène	103-90-2	C ₈ H ₉ NO ₂	AINS	151,2	0,5 ^a	0,09 ^l
Acide niflumique	4394-00-7	C ₁₃ H ₉ F ₃ N ₂ O ₂	AINS	282,2	4,4 ^b	7,0.10 ⁻⁵ m
Aspirine	50-78-2	C ₉ H ₈ O ₄	AINS	180,2	1,2 ^c	0,03 ^m
Diclofénac	15307-86-5	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	AINS	296,1	4,5 ^d	8,0.10 ⁻⁶ n
Ibuprofène	15687-27-1	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	AINS	206,3	4,1 ^e	1,0.10 ⁻⁴ m
Kétoprofène	22071-15-4	C ₁₆ H ₁₄ O ₃	AINS	254,3	3,2 ^e	2,0e-04 ^m
Phénazone	60-80-0	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O	AINS	188,2	0,4 ^c	0,27 ^m
Amiodarone	1951-25-3	C ₂₅ H ₂₉ I ₂ NO ₃	Antiarythmique	645,3	7,2 ^f	NA
Triméthoprime	738-70-5	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	Antibiotique	290,3	0,9 ^c	0 ^m
Ampicilline	69-53-4	C ₁₆ H ₁₈ N ₃ NaO ₄ S	Antibiotique (bétalactamines)	349,4	1,4 ^a	0,03 ^m
Pipéracilline	61477-96-1	C ₂₃ H ₂₇ N ₅ O ₇ S	Antibiotique (bétalactamines)	517,6	NA	NA
Doxycycline	564-25-0	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	Antibiotique (cyclines)	444,4	0,0 ^a	0 ^m
Tétracycline	60-54-8	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	Antibiotique (cyclines)	444,4	-1,4 ^c	5,2.10 ⁻⁴ m
Ofloxacine	82419-36-1	C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₄	Antibiotique (fluoroquinolones)	361,4	-0,4 ^c	0,03* ^h
Métronidazole	443-48-1	C ₆ H ₉ N ₃ O ₃	Antibiotique (imidazoles)	171,2	0,0 ^c	0,06 ^l
Azithromycine	83905-01-5	C ₃₈ H ₇₂ N ₂ O ₁₂	Antibiotique (macrolides)	749,0	4,0 ^g	3,0.10 ⁻⁶ h
Clarithromycine	81103-11-9	C ₃₈ H ₆₉ NO ₁₃	Antibiotique (macrolides)	748,0	3,2 ^g	2,0.10 ⁻⁶ * ^h
Erythromycine A	114-07-8	C ₃₇ H ₆₇ NO ₁₃	Antibiotique (macrolides)	733,9	3,1 ^g	6,0.10 ⁻⁶ * ^h
Josamycine	16846-24-5	C ₄₂ H ₆₉ NO ₁₅	Antibiotique (macrolides)	828,0	NA	NA
Roxithromycine	80214-83-1	C ₄₁ H ₇₆ N ₂ O ₁₅	Antibiotique (macrolides)	837,0	NA	2,0.10 ⁻⁸ * ^o
Spiramycine	24916-50-5	C ₄₃ H ₇₄ N ₂ O ₁₄	Antibiotique (macrolides)	843,1	1,9* ^h	NA
Tylosine	1401-69-0	C ₄₆ H ₇₇ NO ₁₇	Antibiotique (macrolides)	916,1	1,6 ^g	5,0.10 ⁻⁹ j
Acide oxolinique	14698-29-4	C ₁₃ H ₁₁ NO ₅	Antibiotique (quinolones)	261,2	0,9 ^a	1,0.10 ⁻⁵ p
Ciprofloxacine	85721-33-1	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	Antibiotique (quinolones)	331,3	0,3 ⁱ	0,09 ^q
Fluméquine	42835-25-6	C ₁₄ H ₁₂ FNO ₃	Antibiotique (quinolones)	261,2	NA	0,008* ^h
Norfloxacine	70458-96-7	C ₁₆ H ₁₈ FN ₃ O ₃	Antibiotique (quinolones)	319,3	0,5 ^j	9,0.10 ⁻⁷ j

TABLEAU 1.11 – Propriétés physico-chimiques des résidus pharmaceutiques ciblés dans cette étude. (suite)

Nom	CAS	Formule brute	Catégorie	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Log K _{OW}	Solubilité dans l'eau (mol.L ⁻¹)
Rifampicine	13292-46-1	C ₄₃ H ₅₈ N ₄ O ₁₂	Antibiotique (rifamycines)	822,9	4,2 ^{*h}	0 ^m
Sulfadiazine	68-35-9	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	Antibiotique (sulfanamides)	250,3	-0,1 ^c	3,1.10 ⁻⁴ m
Sulfaméthazine	57-68-1	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	Antibiotique (sulfanamides)	278,3	0,2 ^b	0,01 ^j
Sulfaméthoxazole	723-46-6	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	Antibiotique (sulfanamides)	253,3	0,9 ^c	0,002 ^m
Cyclophosphamide	50-18-0	C ₇ H ₁₅ Cl ₂ N ₂ O ₂ P · H ₂ O	Anticancéreux	261,1	0,6 ^c	0,15 ^r
Lorazépam	846-49-1	C ₁₅ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	Anxiolytique	321,2	2,4 ^c	2,5.10 ⁻⁴ j
Nordazépam	1088-11-5	C ₁₅ H ₁₁ ClN ₂ O	Anxiolytique	270,7	2,9 ^c	NA
Oxazépam	604-75-1	C ₁₅ H ₁₁ N ₂ O ₂ Cl	Anxiolytique	286,7	2,2 ^c	7,0.10 ⁻⁵ l
Losartan	114798-26-4	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₆ O	Cardiovasculaire	422,9	4,0 ^{*h}	2,0.10 ⁻⁵ * h
Gemfibrozil	25812-30-0	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	Cardiovasculaire (agent hypolipémiant)	250,3	4,8 ^h	4,0.10 ⁻⁵ *h
Aténolol	29122-68-7	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₃	Cardiovasculaire (β-bloquants)	266,3	0,2 ^c	0,05 ^e
Métoprolol	37350-58-6	C ₁₅ H ₂₅ NO ₃	Cardiovasculaire (β-bloquants)	267,4	1,9 ^c	0,06 ^e
Hydrochlorothiazide	58-93-5	C ₇ H ₈ ClN ₃ O ₄ S ₂	Diurétique	297,7	-0,1 ^c	0 ^m
Oestradiol (E2)	50-28-2	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	Hormone	272,4	4,0 ^c	1,4.10 ⁻⁵ m
Ethinylestradiol (EE2)	57-63-6	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	Hormone	296,4	3,7 ^c	3,8.10 ⁻⁵ m
Noréthindrone	68-22-4	C ₂₀ H ₂₆ O ₂	Hormone	298,4	3,0 ^c	2,4.10 ⁻⁵ m
Estrone (E1)	53-16-7	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	Hormone	270,4	3,1 ^c	1,1.10 ⁻⁴ j
Acétazolamide	59-66-5	C ₄ H ₆ N ₄ O ₃ S ₂	Inhibiteurs de l'anhydrase carbonique	222,2	-0,3 ^c	4,0.10 ⁻³ m
Carbamazépine	298-46-4	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	Neuroleptique	236,3	2,5 ^k	4,7.10 ⁻⁴ d
Caféine	58-08-2	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	-	194,2	-0,1 ^c	0,11 ^m

Note : AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien; NA (Not Available) : information non disponible; * : Valeur estimée a Base de donnée LogKow, à databank of evaluated octanol-water partition coefficients (Log P); produite par Sangster; b Takács-Novák et al., 1995; c Hansch et al., 1995; d Ferrari et al., 2003; e McFarland et al., 2001; f Ho et al., 2018; g McFarland et al., 1997; h US EPA, Estimation Program Interface (EPI) Suite, ver.4.11, nov 2012. Disponible à l'adresse : <https://www.epa.gov/tsca-screening-tools>; i Takács-Novák et al., 1992; j O'Neil, 2013; k Dal Pozzo et al., 1989; l Yalkowsky & He, 2003; m Base de donnée AQUASOL (database of Aqueous Solubility), ver.5, Yalkowsky & Dannenfleser, 1992; n Fini et al., 1986; o Base de donnée PHYSPROP, valeur estimée d'après Meylan et al., 1996; p Tomlin, 1994; q Nowara et al., 1997; r IARC, 1975;

1.2.5 Aspects législatifs et réglementaires

Depuis l'avènement de l'ère industrielle, le nombre, de même que le type et la quantité de contaminants rejetés dans les écosystèmes n'ont cessé d'augmenter.

Comme indiqué dès la section 1.2.1, il fallut **différentes grandes catastrophes écologiques et sanitaires** avant que les gouvernements et l'opinion publique commencent à prendre conscience du danger que cela pouvait représenter à la fois sur les écosystèmes, mais aussi sur les populations humaines. Parmi ces catastrophes majeures, on peut citer les événements de la baie de Minamata (Japon) dans les années 50, de SEVESO (Italie) en juillet 1976 ou encore de Bhopal (Inde) en décembre 1984. Ils correspondent respectivement à la présence de méthylmercure dans le compartiment aquatique, la formation d'un nuage de dioxines et à l'explosion d'une usine de pesticides. Ces accidents permirent d'éveiller les consciences et débouchèrent sur la création d'une réglementation à différents plans nationaux et internationaux encadrant : le transport et l'élimination de déchets toxiques (Convention de Bâle en 1989), l'identification de sites industriels (**Directive européenne dite « De Seveso » ; Directive 82/501/CEE**¹²), etc. La première directive « De Seveso » (82/501/CEE) est d'ailleurs à l'origine d'une base de données **eMARS**¹³, acronyme pour *Major Accident Reporting System* recensant les rapports d'accidents ou d'accidents évités de justesse en Europe depuis 1982. En janvier 2022, eMARS comptabilisait un total de 1 271 rapports.

En Europe, l'un des moments clés dans la structuration d'une réglementation environnementale fut l'édition de la **Directive dite Cadre sur l'Eau ou DCE (2000/60/UE)**¹⁴. L'**annexe X** de cette directive est pour nous primordiale puisqu'elle liste les substances considérées comme prioritaires ou dangereuses prioritaires et présente leurs modalités de suivi comme les matrices concernées, les méthodes analytiques et **normes environnementales**. Pour certains, nous disposons de deux types de normes environnementales : la **NQE** (Norme de Qualité Environnementale) et la **NQE-MA** (Norme de Qualité Environnementale - concentration Moyenne Annuelle). Ces deux types de normes correspondent à des valeurs seuils (en concentration absolue pour la NQE et en concentration moyenne annuelle pour la NQE-MA) à ne pas dépasser dans des matrices environnementales précises comme les sédiments, les eaux (de surface, de transition, marines, souterraines, etc.) ou le biote. Ce texte de 2000 est fréquemment mis à jour, il le fut notamment par les directives 2008/105/CE¹⁵ et 2013/39/UE¹⁶, cette dernière représentant le deuxième cycle de la DCE. La directive datant de 2013 se démarque par l'insertion d'une nouvelle matrice de surveillance, le **biote**. Actuellement, la DCE référence 45 substances ou groupes de substances prioritaires dont 21 sont qualifiées de dangereuses

12. Directive **86/280/CEE** du Conseil concernant les valeurs limites et les objectifs de qualité pour les rejets de certaines substances dangereuses relevant de la liste I de l'annexe de la directive 76/464/CEE.

13. Base de données eMARS. Disponible à l'adresse : <https://emars.jrc.ec.europa.eu/en/emars/content>, consultée en janvier 2022.

14. Directive **2000/60/CE** du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.

15. Directive **2008/105/CE** du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 établissant des normes de qualité environnementale dans le domaine de l'eau, modifiant et abrogeant les directives du Conseil 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE, 86/280/CEE et modifiant la directive 2000/60/CE.

16. Directive **2013/39/UE** du Parlement européen et du Conseil du 12/08/2013 modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau.

prioritaires.

Actuellement, les accidents associés aux substances chimiques ne sont plus aussi exceptionnels. Cependant, le nombre de composés émis sur le marché et donc potentiellement retrouvés dans les écosystèmes est en constante croissance (NAIDU et al., 2021). Ce nombre a été estimé en 2020 à près de 350 000 composés ou mélange de composés produits et employés dans le monde (WANG et al., 2020b). Les réglementations bien qu'essentielles ne permettent pas de protéger des dégâts sur l'Homme et les écosystèmes inhérents à l'emploi diffus d'une telle diversité de composés. Leurs effets sont peu ou pas connus, d'autant plus que l'on ne prend généralement pas en compte l'**effet cocktail**, soit l'interaction de ces composés entre eux et avec les environnements (SVINGEN & VINGGAARD, 2016). Il est donc relativement impossible d'estimer l'impact d'un contaminant aisément, trop de combinaisons existent et trop de variables entrent en compte, sachant que généralement, avant leur utilisation pas ou peu d'études environnementales sont réalisées. Certaines réglementations tentent de prévenir de ce danger en incitant à des études plus approfondies sur chaque composé nouvellement produit avant leur emploi, il s'agit surtout de la **directive REACH** (enRegistrement, Evaluation et Autorisation des produits CHimiques) qui est entrée en vigueur en juin 2007. Cette directive permet de contrôler les substances chimiques présentes sur le marché européen qu'elles soient importées ou fabriquées dans l'enceinte de l'UE. Depuis, toute substance qui est fabriquée ou importée à plus d'une tonne par an devra au préalable être enregistrée et ainsi tout industriel doit au préalable décrire les risques potentiels associés à l'emploi de ladite substance. Dans le cas où ces risques seraient trop importants, l'UE s'autorise le droit de réguler voire d'interdire l'emploi d'une substance. D'autres législations comme la convention **OSPAR** (Convention pour la protection du **milieu marin** de l'Atlantique du Nord-Est ; OSPAR pour Oslo-Paris, deux conventions qu'elle remplace) vont se démarquer en listant non pas les substances dangereuses avérées, mais des substances potentiellement préoccupantes. La convention OSPAR réunit actuellement une liste de **306** composés. Cette différence bien que minime permet de faire entrer un composé suspect bien plus rapidement dans la convention OSPAR que celle de l'UE.

Ainsi, on peut observer qu'à l'inverse du siècle précédent, nous possédons actuellement à disposition certains outils permettant de protéger et de prévenir de l'impact de la contamination chimique sur les écosystèmes.

1.3 Dynamique des communautés microbiennes en milieu estuarien

1.3.1 L'écologie microbienne et ses outils moléculaires

1.3.1.1 L'approche culturelle

L'approche culturelle de la microbiologie, bien qu'essentielle à la compréhension du monde microbien éprouve de nombreuses limites et contraintes. La principale limite reste son manque de représentativité (LEWIS et al., 2010 ; OVERMANN et al., 2017). Outre l'aspect long et fastidieux de la caractérisation de cultures pures, tous les microorganismes ne sont pas cultivables et/ou isolables (AMANN et al., 1995 ; RAPPÉ & GIOVANNONI, 2003 ; LEWIS et al., 2010). Les microbiologistes ont remarqué que le nombre de colonies se développant sur milieu de culture était bien inférieur au nombre de microorganismes comptabilisés par microscopie (JANNASCH & JONES, 1959), cette observation est connue sous l'appellation « *Great plate count anomaly* » (« la grande anomalie de comptage sur boîte ») (STALEY, 1985). Les communautés microbiennes sont formées de réseaux complexes d'interactions entre organismes et d'une multitude de micro-niches écologiques. De nombreux organismes restent dépendants d'autres organismes colonisant le milieu et les conditions optimales de croissance de chacun d'entre eux peuvent être excessivement précises. Le nombre de microorganismes ayant pu être isolé et caractérisé par culture pure est excessivement faible et estimé à moins de 1% de la diversité microbienne existante (AMANN et al., 1995 ; RAPPÉ & GIOVANNONI, 2003). Cette approche reste donc intrinsèquement réductionniste surtout au regard de l'écologie microbienne.

1.3.1.2 La révolution de la biologie moléculaire

Dans les années 1940, le développement de la biologie moléculaire a représenté alors un grand tournant pour la microbiologie. Elle a permis de se défaire en partie des contraintes de l'approche culturelle sus-citées et de poser un regard différent les communautés microbiennes.

Deux évènements majeurs ont permis le développement de cette discipline : (i) la découverte du support de l'information génétique et l'élucidation de la **structure de l'ADN** (acide désoxyribonucléique) entre 1940 et 1960, puis (ii) l'élaboration d'outils permettant de décrire et manipuler de ces molécules du vivant dont l'un des outils principaux est la **PCR** (*Polymerase Chain Reaction*).

Bien plus qu'un outil technique, la biologie moléculaire est un nouveau champ disciplinaire permettant une nouvelle approche du vivant. L'un des exemples majeurs des avancées liées à la biologie moléculaire est le rétablissement des différents domaines du vivant et la mise en lumière des **archées**. Les archées et les bactéries ont longtemps été regroupées au sein d'un même groupe (royaume/domaine), les procaryotes. La taxonomie se basant alors essentiellement sur des critères morphologiques et biochimiques. C'est avec l'avènement des

outils moléculaires et précisément de la phylogénie (se basant pour les procaryotes sur l'étude de l'ARN ribosomique 16S), que la classification des domaines du vivant fut revisitée. Grâce surtout aux travaux de Carl R. Woese et George E. Fox en 1977, qui supportèrent l'hypothèse de trois domaines du vivant bien distincts séparant au sein des procaryotes les bactéries, des archées puis les eucaryotes (WOESE & FOX, 1977) (Figure 1.14). Les marqueurs universels (et conservés), dont les ARN ribosomiaux (5S, 16-18S, 23-28S), se sont rapidement imposés comme les supports principaux de la phylogénie, et le restent encore aujourd'hui.

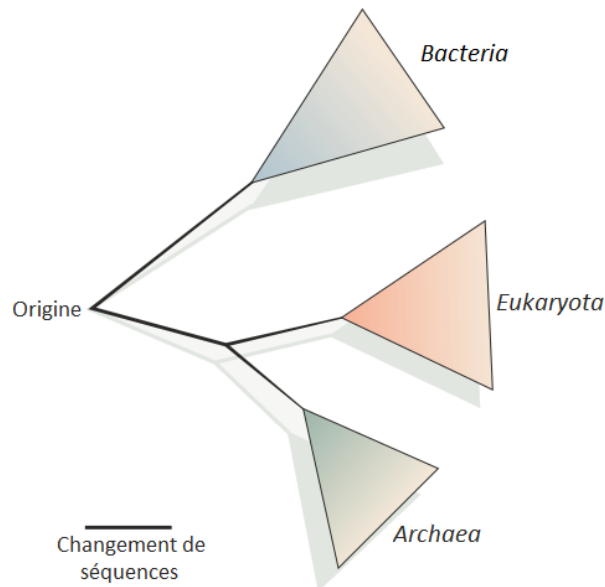


FIGURE 1.14 – Arbre phylogénétique simplifié, basé sur les séquences d'ARN ribosomique, représentant les trois domaines du vivant d'après PACE (2006).

1.3.1.3 L'avènement de la biologie moléculaire avec le séquençage

1.3.1.3.1 Le clonage et séquençage par la technologie Sanger

Un second exemple caractéristique de l'importance de la biologie moléculaire pour les sciences de la biologie est le développement du **séquençage**. C'est en 1977 tout comme les travaux de Woese et Fox, que fut proposée l'une des premières techniques de séquençage : le **séquençage Sanger** (SANGER et al., 1977) (Figure 1.15). Élaborée par Fred Sanger et Alan R. Coulson, cette méthode reposant à l'origine sur les procédés de réplification de l'ADN et l'incorporation de bases azotées radioactives a permis pour la première fois de caractériser la composition de la molécule l'ADN et son codage. A noter que la même année A. Maxam et W. Gilbert ont eux aussi proposé une méthode de séquençage (MAXAM & GILBERT, 1977), plus complexe et plus toxique, celle-ci fut peu employée et rapidement délaissée au profit de la « méthode Sanger ».

1.3.1.3.2 Les NGS (Next-Generation Sequencing)

Cette méthode de séquençage est restée extrêmement populaire durant plus de 30 ans. Elle connut son apogée durant les années 80/90 au travers de projets tels que le **Projet Génome Humain** (*Human Genome Project*), émergeant autour de 1985 (Figure 1.15). Des projets pour lesquels, la méthode de séquençage Sanger connut une importante phase d'automatisation, rendue possible par des développements technologiques comme le système d'électrophorèse capillaire ou les robots passeurs d'échantillons (SCHUSTER, 2008). Néanmoins, à partir des années 2000, le coût de l'analyse et le faible débit de production (quelques milliers de paires de bases par jour), ont incité de nombreuses compagnies et groupes de recherche à proposer des méthodes alternatives (SCHUSTER, 2008) (Figure 1.15). Ainsi, 454 Life Sciences proposa dès 2005, le **pyro-séquençage** (MARGULIES et al., 2005). Cette technologie repose sur des PCR en émulsion (METZKER, 2010). Par cette spécificité, le débit de séquençage put passer de quelques milliers de bp par jour à plusieurs centaines de milliers de paire de bases (bp) par run. D'autres technologies furent rapidement développées et commercialisées par la suite, telle que la technologie **Illumina** (anciennement Solexa) ou **SOLiD** (commercialisé par Life Technologies), les deux reposant sur des PCR en phase solide. Ces différentes méthodes de séquençage constituent la deuxième génération de séquençage aussi appelée **séquençage haut-débit** ou **NGS** (*Next generation sequencing*). Ces nouveaux outils ont tous en commun de produire un grand volume de données en un temps réduit. Ainsi, cette génération permit une réduction drastique des coûts de séquençage, rendant le séquençage accessible à un grand nombre d'équipes de recherche et permettant sa démocratisation.

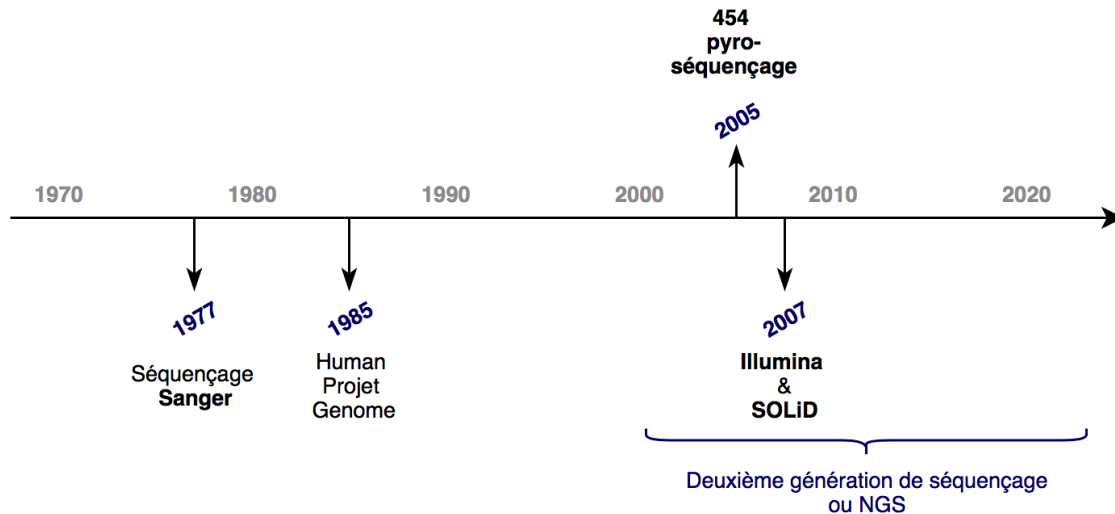


FIGURE 1.15 – Frise chronologique des événements majeurs constituant la révolution des NGS.

Actuellement, nous sommes en plein développement de la troisième génération de séquençage, elle est caractérisée, entre autre, par le développement d'outils permettant le séquençage en temps réel sur molécule unique, c'est-à-dire l'analyse directe d'un brin d'ADN sans étape d'amplification par PCR (SCHADT et al., 2010) ou de brins plus long (SHENDURE et al., 2017; QUICK et al., 2014). Rappelons, que la PCR présente intrinsèquement un biais lié au taux d'erreur propre à l'ADN polymérase. Cette nouvelle génération pourrait

permettre, à l'avenir, de se défaire de ce biais majeur.

Chaque génération de séquençage ne vient pas irrémédiablement supplanter la précédente. La méthode Sanger est encore fréquemment utilisée par de nombreux laboratoires notamment pour sa fiabilité et par la longueur des brins d'ADN/ARN séquencés (DE CARIO et al., 2020). Et bien que la troisième génération soit actuellement en cours de développement (NIEDRINGHAUS et al., 2011 ; SHENDURE et al., 2017), les séquençages se font toujours en grandes majorités sur des appareils appartenant à la deuxième génération (KANZI et al., 2020).

1.3.1.4 La métagénomique, la métagénomique et la génomique fonctionnelle

Les NGS ont permis le développement de la **métagénomique**, soit l'exploration de génome dans un environnement donné. Elles utilisent le séquençage de marqueurs phylogénétiques (ADNr 16S ou 18S) ou fonctionnels afin d'identifier les microorganismes ou fonctions présentes et leurs abondances relatives. La métagénomique a permis l'amélioration de la perception de la diversité microbienne et le contournement du biais d'identification des approches culturelles. Ainsi une multitude de biomes ont été explorés dans différentes matrices, allant des sols (JANSSEN, 2006), au milieu lacustre (LEFRANC et al., 2005), marin (VENTER et al., 2004), au microbiote humain intestinal (ECKBURG et al., 2005), à celui de la peau (GRICE & SEGRE, 2011), et bien d'autres. Brièvement, la **métagénomique** s'intéresse à l'ensemble de l'ADN présent dans un échantillon et non plus à un seul gène. Actuellement, c'est une discipline phare de l'écologie microbienne puisqu'elle permet de s'interroger à la fois sur la diversité taxonomique et sur les potentielles fonctions présentes dans un échantillon environnemental. Elle présente cependant quelques biais dont celui d'avoir accès à l'intégralité des génomes présents dans un échantillon. De plus, elle repose sur un développement bio-informatique, bien plus complexe que la métagénomique.

Jusqu'ici, les disciplines abordées se rapprochent de la génomique structurale, soit l'étude de composition, l'organisation et la séquence de la molécule d'ADN. Or, au-delà de composition taxonomique d'un échantillon, on s'intéresse aussi aux capacités fonctionnelles développées par la communauté microbienne composant ledit échantillon. Ce deuxième niveau de questionnement représente une seconde branche de la génomique, appelée, **génomique fonctionnelle**. Elle s'intéresse plus particulièrement à l'étude des fonctions et de l'expression des gènes. Il existe différents niveaux d'analyses fonctionnelles : la transcriptomique (ARN), protéomique (protéine) ou métabolomique (métabolisme).

Enfin, en dehors de ces méthodes de séquençage, de nombreux outils sont aujourd'hui disponibles afin d'interroger la diversité fonctionnelle propre à un échantillon environnemental. Parmi eux, nous pouvons citer les qPCR (ou PCR en temps réel) ou les puces à ADN ou biopuces (*microarray*). Les puces à ADN permettent d'étudier simultanément la présence (génome) ou l'expression (transcriptome) de plusieurs milliers de gènes ciblés. Concrètement, ces puces sont des supports rigides (des lames) sur lesquels sont fixés plusieurs milliers de sondes correspondant à de courtes séquences d'ADN, chacune spécifique à un gène. L'ADN/ARN

environnemental extrait dénaturé est déposé sur ces puces et il s'hybridera avec les sondes qui lui sont complémentaires. Ainsi l'expression ou la composition en gènes fonctionnels peut être comparée entre deux échantillons donnés. Les biopuces sont employées dans des domaines variés, de l'écologie microbienne à la biologie médicale.

1.3.2 Les microorganismes, des acteurs clefs pour les écosystèmes aquatiques

Les premiers travaux datant du XVII^{ème} siècle ne furent pas suivis d'un engouement particulier par la description des compartiments microbiens. Pendant encore plusieurs siècles, peu d'informations furent accessibles aux sujets de microorganismes. Le rôle des microorganismes dans les écosystèmes fut longtemps sous-évalué. Le regard porté sur le compartiment microbien resta focalisé sur les organismes pathogènes pour l'Homme. Il faut attendre les années 1970 pour réellement concevoir que loin d'être négligeables, les microorganismes jouent des rôles prépondérants dans de multiples écosystèmes (POMEROY, 1974) et plus encore, ils dominent la biosphère en abondance (biomasse) et en diversité (biodiversité). Cette observation est particulièrement vraie pour les environnements aquatiques (WHITMAN et al., 1998).

L'ensemble de ces observations aboutit dans les années 1980 à la synthèse du concept de « **boucle microbienne** » par AZAM et al. (1983). Ce modèle estime qu'au sein des réseaux trophiques pélagiques, une part importante de la DOM (matière organique dissoute) produite par les organismes phytoplanctoniques est consommée par les bactéries hétérotrophes. Ces dernières sont consommées par des protozoaires, eux-mêmes source d'énergie pour le zooplancton. Ainsi, les bactéries hétérotrophes permettent la réintégration de la DOM dans le réseau trophique, d'où l'appellation de boucle microbienne (Figure 1.16).

Jusqu'alors, les réseaux trophiques étaient vus de manière assez linéaire, partant de producteurs primaires jusqu'aux consommateurs (POMEROY, 1974). Ce modèle de boucle microbienne vint bousculer cette vision et évolua en se complexifiant au fil des années. D'autres acteurs et processus furent introduits à ce modèle tels que la lyse virale (SUTTLE, 2007), les eucaryotes mixotrophes, les procaryotes phototrophes (*Synechococcus* et *Prochlorococcus*) et d'autres (Figure 1.16).

La boucle microbienne permet de mettre en lumière l'importance des microorganismes dans les processus de reminéralisation de la matière organique ainsi que leurs implications dans les cycles biogéochimiques (carbone, azote, phosphore, etc.). Bien que la boucle microbienne fût décrite pour la colonne d'eau, elle peut clairement s'étendre à un large type d'environnements aquatiques. Plus localement, les acteurs et les réseaux trophiques s'installant ne seront pas identiques. Pourtant, les microorganismes se sont révélés être des acteurs essentiels à de nombreux processus clefs des écosystèmes. On peut brièvement citer leur rôle prépondérant dans le cycle du carbone via la boucle microbienne précédemment décrite, mais aussi la méthanogénèse (KNITTEL & BOETIUS, 2009), dans le cycle de l'azote via nitrification (ERGUDER et al., 2009), dans celui du soufre via la sulfato-réduction (PRADEL et al., 2013), ainsi que dans la bioremédiation

via la dégradation de contaminants (AGER et al., 2010), etc. Par la diversité d'organismes et de métabolismes présents, le compartiment microbien assure un large panel de services écosystémiques, faisant de ce dernier un des compartiments clés des écosystèmes.

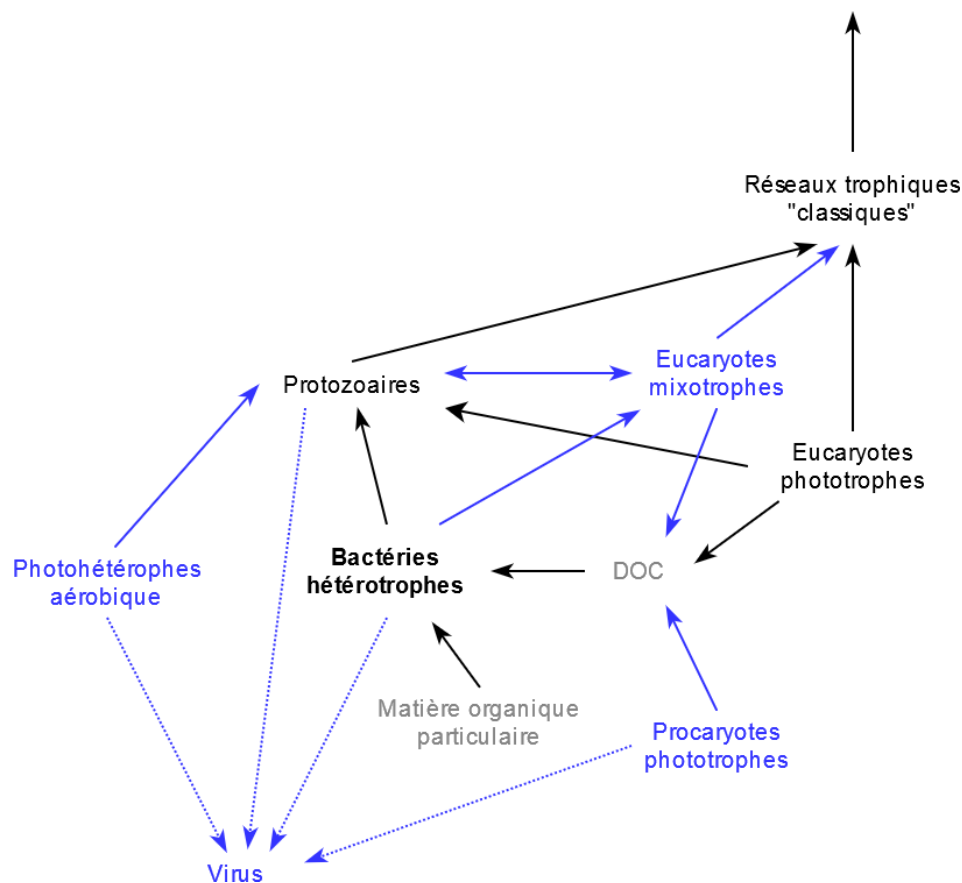


FIGURE 1.16 – Schéma de la boucle microbienne telles que décrite par AZAM et al., 1983 (en noir), ainsi que les additions successives (en bleu) d'après FENCHEL (2008).

1.3.3 Les communautés microbiennes en milieu estuarien

1.3.3.1 La diversité microbienne retrouvée en milieu estuarien

Comme décrit précédemment, le vivant se scinde en **trois domaines** : *Bacteria*, *Archaea* et *Eukaryota* (WOESE & FOX, 1977). Deux d'entre eux correspondent à des domaines réunissant exclusivement des microorganismes procaryotes (*Bacteria* et *Archaea*). Chacun de ces domaines est scindé en grands groupes monophylétiques appelés **phylums**.

Par la suite, dans cette synthèse bibliographique, les appellations employées pour phylums procaryotiques ne prennent pas en compte les différents modifications apportés plus récemment sur la nomenclature (cf. le suffixe *-ota*) (OREN et al., 2015; WHITMAN et al., 2018; OREN & GARRITY, 2021).

1.3.3.1.1 Domaine *Bacteria*

Les bactéries sont scindées en un grand nombre de phylums, actuellement, on en dénombre plus d’une trentaine même si cela varie encore fréquemment en fonction des auteurs et de l’avancée des recherches dans ce domaine. Ici, nous nous focaliserons sur les phylums majoritairement retrouvés dans les écosystèmes aquatiques en général, et les estuaires en particulier. Les deux phylums les plus fréquemment abondants en milieu estuarien sont les *Proteobacteria* et les *Bacteroidetes*, que ce soit pour dans les matrices sédimentaires (FORTUNATO & CRUMP, 2015 ; MATCHER et al., 2018 ; VIDAL-DURÀ et al., 2018) ou la colonne d’eau (CRUMP et al., 2004 ; KIRCHMAN et al., 2005 ; AGUIRRE et al., 2017 ; MATCHER et al., 2018). Pour faciliter la lisibilité de cette section, les phylums détaillés dans l’énoncé suivant sont représentés schématiquement dans la figure 1.17.

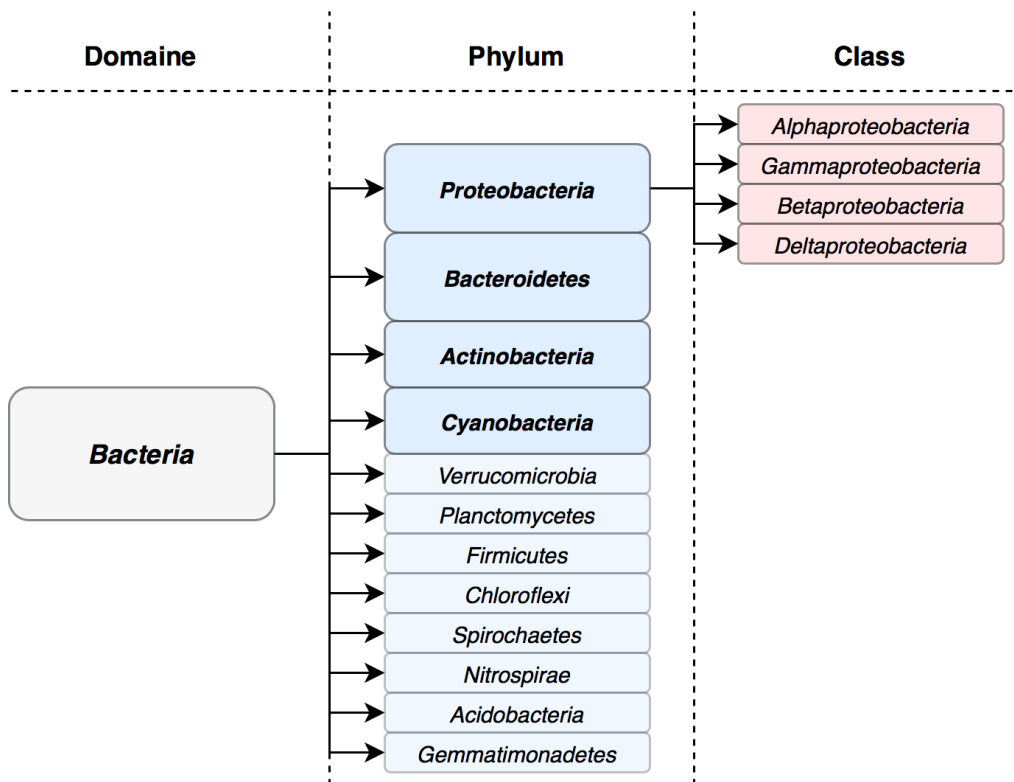


FIGURE 1.17 – Schéma des phylums bactériens les plus fréquemment identifiés en milieu estuarien.

- Les *Proteobacteria*

Les protéobactéries représentent l’un des phylums les plus abondants et les plus diversifiés. Elles sont hautement ubiquitaires. Des organismes rattachés à ce phylum sont retrouvés pratiquement dans tous les écosystèmes. Ce phylum se scinde en 6 classes principales : Les *Alpha-*, *Beta-*, *Gamma-*, *Delta-*, *Epsilon-* et *Zetaproteobacteria*. Les 4 premières classes citées sont les plus conséquentes (Figure 1.17).

Les **Alphaproteobacteria** sont retrouvées au sein de niches écologiques et des modes de vie variés allant du saprophytisme à la symbiose (et bien d'autres) (NEWTON et al., 2011). Les alphaprotéobactéries représentent fréquemment le groupe le plus abondant décrit en milieu marin (POMMIER et al., 2007; ZINGER et al., 2011; SUNAGAWA et al., 2015). Elles sont surtout représentées par SAR11 aussi nommée nommé *Candidatus Pelagibacter ubique*, le genre le plus présent en milieu marin. Néanmoins, les *Alphaproteobacteria* sont aussi rencontrées en milieu estuarien et dulcicole (NEWTON & MCLELLAN, 2015). En milieu estuarien, elles sont fréquemment représentées par la famille des *Rhodobacteraceae* (FORTUNATO et al., 2013; JEFFRIES et al., 2016; AGUIRRE et al., 2017).

Les **Gammaproteobacteria** vont présenter un profil semblable aux *Alphaproteobacteria*, caractérisées par une abondance marquée en milieu marin (avec des genres tels que *Marinobacter* ou des ordres tels que les *Oceanospirillales*) (POMMIER et al., 2007; SUNAGAWA et al., 2015) mais aussi par une présence ubiquitaire (dans les sols (SPAIN et al., 2009), les rivières (NEWTON et al., 2011), etc.). Néanmoins, dans un écosystème estuarien, on s'attendra à observer une augmentation de l'abondance relative de ce phylum avec la salinité (HERLEMANN et al., 2011).

Notons qu'au sein des gammaprotéobactéries, on peut distinguer l'ordre des **Enterobacteriales**. Cet ordre comprend de nombreux organismes pathogènes pour l'Homme ou les animaux, dont que les genres : *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Plesiomonas*, *Yersinia*, *Salmonella*, etc. Cet ordre ainsi que celui des *Legionellales* est d'intérêt majeur dans le domaine médical. On pourrait s'attendre à observer des organismes rattachés à ces ordres dans le milieu estuarien à proximité des STEU (IBEKWE et al., 2016).

Les **Betaproteobacteria** présentent un schéma inverse aux *Alphaproteobacteria*, elles sont plutôt inféodées au milieu dulcicole. On peut s'attendre à observer une diminution de l'abondance de ce groupe avec la salinité (KIRCHMAN et al., 2005; CRUMP et al., 1999; HERLEMANN et al., 2011; FORTUNATO et al., 2013; LIU et al., 2014a). Cette classe a été depuis peu modifiée, les *Betaproteobacteria* ont été replacées au sein de *Gammaproteobacteria*.

Les **Deltaproteobacteria** sont bien moins fréquemment observées en milieu estuarien. Elles semblent plus fréquemment identifiées dans les matrices sédimentaires (LIU et al., 2014a; COLIN et al., 2017; GUO et al., 2018). Ce groupe peut être très important pour la dynamique des écosystèmes, car il est constitué de différents genres bactériens appartenant aux sulfato-réductices anaérobies strictes, donc influençant les cycles du carbone et du soufre. Les **Deltaproteobacteria** sont actuellement réunie sous le phylum de *Desulfobacterota* (OREN & GARRITY, 2021).

- Les **Bacteroidetes**

Précédemment nommé *Cytophaga-Flavobacteria-Bacteroides* ou encore *Cytophaga-like bacteria*, ce phylum présente une grande diversité, lui permettant de s'installer et proliférer dans des écosystèmes aussi variés que stressants (POMMIER et al., 2007). Leur grande valence écologique serait en partie due à leur capacité à

utiliser comme source de carbone la matière organique de haut poids moléculaire, souvent décrites comme très réfractaire et difficilement utilisable (COTTRELL & KIRCHMAN, 2000). Ce phylum est fréquemment et abondamment retrouvé en milieu estuarien, très généralement, il domine la communauté (avec les protéobactéries) (CRUMP et al., 2004; KIRCHMAN et al., 2005; FORTUNATO & CRUMP, 2015). Précisément, en milieu estuarien, les *Bacteroidetes* sont souvent abondantes dans la zone de turbidité maximale (CRUMP et al., 1999; BOUVIER & DEL GIORGIO, 2002). Ce phylum est représenté quasi exclusivement par la classe des *Flavobacteriia* et plus rarement celle des *Sphingobacteriia* (FORTUNATO & CRUMP, 2015).

- Les *Actinobacteria*

Il s'agit d'un des phylums plus abondant en milieu dulcicole (NEWTON et al., 2011). Assez logiquement, on observe fréquemment une diminution de l'abondance de ce phylum avec l'augmentation de la salinité (CRUMP et al., 1999; HERLEMANN et al., 2011) ou de manière plus similaire, le long d'un gradient estuarien (de l'amont à l'aval) (KIRCHMAN et al., 2005; FORTUNATO et al., 2013). Ce phylum peut représenter une part non négligeable de la communauté microbienne estuarienne (KIRCHMAN et al., 2005).

- Les *Cyanobacteria*

Ce phylum représente généralement une assez faible proportion des communautés microbiennes en milieu estuarien, dans les sédiments (GUO et al., 2018) ou la colonne d'eau (MATCHER et al., 2018). Parmi les Cyanobacteria, certains genres sont particulièrement connus : *Rubidibacter*, *Prochlorococcus* ou encore *Synechococcus*. Ce phylum est particulièrement important puisqu'il se compose majoritairement d'organismes photosynthétiques dont une partie des organismes sont aussi fixateurs d'azote (N_2). Il s'agit donc d'un groupe de producteurs primaires étroitement liés aux cycles de l'azote et du carbone.

- Les autres phylums

Ici nous n'irons pas plus loin dans le niveau de détail. Il faut cependant garder en mémoire que d'autres groupes peuvent être fréquemment observés en milieu estuarien, comme les *Verrucomicrobia*, les *Planctomycetes* ou les *Firmicutes* (CRUMP et al., 1999; ROBERTO et al., 2018) (Figure 1.17). De plus, les matrices sédimentaires tendent à présenter une diversité microbienne supérieure à celle de la colonne d'eau. Des phylums tels que les *Chloroflexi*, les *Spirochaetes*, les *Nitrospirae* (constitués de bactéries sulfato-réductrices ou nitrifiantes), les *Acidobacteria*, les *Gemmatimonadetes* y sont plus fréquemment détaillés sans pour autant être inféodés au milieu sédimentaire (FENG et al., 2009; LIU et al., 2014a; LU et al., 2017; VIDAL-DURÀ et al., 2018).

1.3.3.1.2 Domaine *Archaea*

Malgré le repositionnement des *Archaea* parmi l'un des 3 domaines du vivant dès 1977 (WOESE & FOX, 1977), les *Archaea* restèrent encore longtemps synonymes d'environnement extrême (ROBERTSON et al., 2005). C'est avec l'avènement du séquençage et l'accumulation de séquences environnementales que l'aspect cosmopolite de la distribution des archées devint une évidence.

Dès les années 70, le domaine des *Archaea* fut décomposé en deux lignées : les ***Euryarchaeota*** et les ***Crenarchaeota***. La taxonomie des *Archaea* resta ainsi pendant deux décennies. Il faut attendre les années 1990, pour voir apparaître une multitude de « nouveaux » phylums tels que les ***Thaumarchaeota*** (BROCHIER-ARMANET et al., 2008), les ***Nanoarchaeota*** (HUBER et al., 2002), les ***Korarchaeota***, les ***Bathyarchaeota*** (MENG et al., 2014) et bien d'autres. Via le séquençage, le nombre de phylums archéens proposé ne cesse d'augmenter depuis, dépassant actuellement la vingtaine de phylums (HUG et al., 2016). L'évolution très récente de la taxonomie de ce domaine nous illustre parfaitement la fragilité et le faible nombre d'informations que nous possédons concernant ce domaine. Ceci est en partie dû à la grande complexité d'isolement et de culture de ces organismes. Néanmoins, ce domaine peut représenter une part importante de diversité microbienne en milieu estuarien (WEBSTER et al., 2015) ou dans les écosystèmes en général (ROBERTSON et al., 2005).

En milieu estuarien, les communautés archéennes sont globalement composées de 12 phylums (LIU et al., 2018) mais nettement dominées par les ***Euryarchaeota***, ***Thaumarchaeota*** et ***Bathyarchaeota*** (LIU et al., 2014b ; WEBSTER et al., 2015 ; WEI et al., 2016 ; LIU et al., 2018). Leurs proportions respectives varient en fonction de la latitude, de la matrice (eau ou sédiment) et bien évidemment de l'écosystème estuarien ciblé. De la même manière que précédemment, les phylums majoritairement observés en milieu estuarien sont illustrés par la figure 1.18.

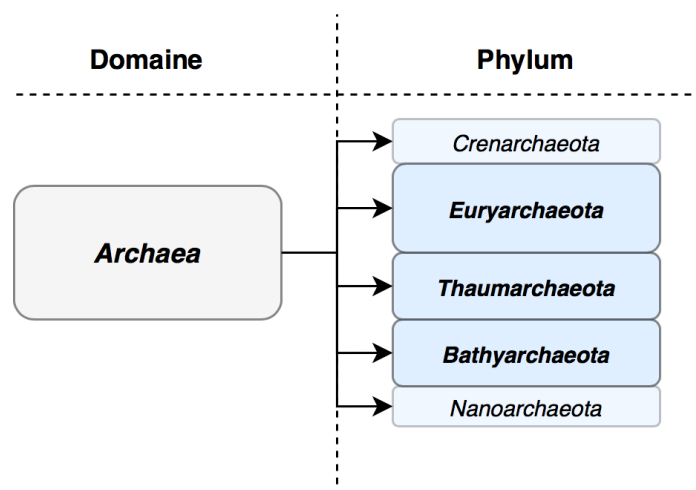


FIGURE 1.18 – Schéma des phylums bactériens les plus fréquemment identifiés en milieu estuarien.

- Les *Crenarchaeota*

Les *Crenarchaeota* prennent leur nom des sources hydrothermales, environnement duquel elles furent isolées pour la première fois, *Crene* signifiant source ou fontaine en grec. Ce phylum est composé d'organismes thermophiles (ordre des *Sulfolobales*) ou hyperthermophiles (ordres des *Desulfurococcales* ou des *Thermoproteales*) ainsi que des thermoacidophiles (ordres des *Acidilobales* et des *Fervidicoccales*). Les *Crenarchaeota* sont majoritairement des organismes anaérobies, néanmoins, quelques représentants aérobies ont pu être identifiés, principalement au sein des *Sulfolobales*. Les 5 groupes cités ici correspondent aux 5 ordres principaux constituant les *Crenarchaeota*.

- Les *Euryarchaeota*

Le nom d'*Euryarchaeota* a pour origine étymologique le mot *Eurus* signifiant un grec "large, divers". Cette appellation leur fut attribuée face au constat de la grande diversité écologique et physiologique caractérisant ce groupe, surtout en comparaison à celle des *Crenarchaeota*.

Les *Euryarchaeota* sont extrêmement ubiquitaires, on peut les trouver dans une grande diversité d'écosystèmes, du milieu marin (DELONG, 1992) aux milieux lacustres ou dulcicoles (WEI et al., 2016), dans les sols (KUDO et al., 1997), les sédiments (WEBSTER et al., 2015), etc. Cette répartition ubiquitaire est d'autant plus remarquable, que des organismes affiliés à ce groupe, se retrouvent jusque dans des environnements extrêmes. Ainsi, on retrouvera parmi les *Euryarchaeota* des organismes hyperthermophiles (ordre des *Thermococcales*), acidophiles (classe des *Thermoplasmata*, dont le genre *Picrophilus*), halophiles (ordre des *Halobacteriales*) ou encore thermoacidophiles.

Au-delà d'une large répartition biogéographique, c'est aussi la grande diversité métabolique présente au sein des *Euryarchaeota* qui est saisissante. Les *Euryarchaeota* incluent des organismes méthanogènes, des sulfato-réducteurs (genre *Archaeoglobus*) ou des methanotrophes (le groupe des **ANME** pour *anaerobic methanotrophic Archaea*) (KNITTEL & BOETIUS, 2009). La méthanogenèse correspond à la production biogénique anaérobie stricte du méthane, ce métabolisme est exclusif aux *Archaea* et principalement aux *Euryarchaeota*. Il est retrouvé chez 5 ordres précisément : les *Methanobacteriales*, les *Methanococcales*, les *Methanomicrobiales*, les *Methanosarcinales* et les *Methanopyrales*, tous appartiennent au phylum des *Euryarchaeota*. Au même titre, les ANME ont été, pour l'heure, uniquement observées parmi les *Euryarchaeota* (KNITTEL & BOETIUS, 2009). Les méthanogènes sont plus fréquemment rencontrées dans les sédiments, notamment dans le cas des estuaires. Les ordres les plus courants sont les *Methanosarcinales* et les *Methanomicrobiales* (WEI et al., 2016).

- Les *Thaumarchaeota*

Les premiers organismes appartenant à ce phylum furent isolés à partir de sédiments marins (DELONG, 1992; FUHRMAN & MCCALLUM, 1992). Initialement, ils furent affiliés aux *Crenarchaeota* et identifiés comme des

Crenarchaeota mésophiles. Il faut attendre pratiquement une vingtaine d'années et l'analyse des séquences d'ADNr 16S pour que ce groupe soit assimilé à un nouveau phylum, les *Thaumarchaeota* (BROCHIER-ARMANET et al., 2008). Bien qu'identifiée initialement comme des organismes mésophiles, une lignée thermophile de *Thaumarchaeota* fut elle aussi identifiée. Au même titre, actuellement, ce phylum est observé dans une grande diversité d'écosystème. L'intérêt principal de ce phylum réside dans la découverte de l'implication de certains *Thaumarchaeota* dans des processus de nitrification. Plus précisément, certaines *Thaumarchaeota* présentent la capacité de réduire l'ammoniac (NH_3^+) en nitrite (NO_2^-) (ERGUDER et al., 2009), ces organismes sont regroupés sous l'appellation ***Ammonia Oxidizing Archaea*** ou **AOA**. Cette capacité reste rare dans le vivant, néanmoins certaines bactéries (nommées ***Ammonia Oxidizing Archaea*** ou **AOB**) la possèdent aussi. Néanmoins, cela n'enlève en rien le rôle majeur que joue ce phylum archéen dans le cycle biogéochimique de l'azote.

- Les ***Bathyarchaeota***

De la même manière que pour les *Thaumarchaeota*, le phylum des *Bathyarchaeota* fut lui aussi pendant longtemps affilié à un autre phylum. Ce n'est qu'en 2014, qu'il fut proposé que le groupe des **MGC** (pour *Miscellaneous Crenarchaeotal Group*) représente un phylum unique (MENG et al., 2014). Bien que son nom provienne directement de l'importance supposée de ce phylum dans les fonds marins, il semblerait que les *Bathyarchaeota* présentent une large répartition allant des environnements marins aux environnements terrestres (XIANG et al., 2017). Les *Bathyarchaeota* semblent néanmoins présenter une abondance conséquente voir dominer les communautés archéennes dans les mangroves, tourbes ou les sédiments estuariens (XIANG et al., 2017).

- Les ***Nanoarchaeota***

Comme son nom l'indique, ce phylum comporte des organismes de taille très réduite (de l'ordre de plusieurs centaines de nanomètres de diamètre). Les *Nanoarchaeota* vivent en symbiose avec d'autres *Archaea* (HUBER et al., 2002). Ils disposent d'un génome très réduit, sûrement le résultat d'une évolution par réduction en lien avec un mode de vie symbiotique ou parasite. Actuellement, seuls 3 représentants de ce groupe ont été cultivés (ST. JOHN et al., 2019).

Pour conclure, beaucoup d'*Archaea* sont encore connus uniquement par le biais du séquençage de leur génome, certains phylums ne présentent même aucun représentant cultivable pour l'heure. Face à cela, il est important de retenir que nos connaissances concernant les *Archaea*, bien qu'en développement, sont encore extrêmement réduites.

1.3.3.2 Facteurs structurant les communautés microbiennes en milieu estuarien

L'interprétation de structuration et de la biogéographie des organismes microbiens est essentielle à l'analyse des communautés microbiennes. Comme énoncé précédemment l'écologie microbienne reste une discipline très jeune, l'interprétation de structuration et la composition des communautés microbienne ainsi que les facteurs influençant ces dernières sont une des priorités de la discipline.

De multiples travaux de recherche ont identifié certaines variables environnementales comme facteurs structurants principaux. Parmi ces derniers, on retrouve majoritairement : la **salinité** (LOZUPONE & KNIGHT, 2007; AUGUET et al., 2010; XIE et al., 2014; JEANBILLE et al., 2016), la **latitude** (XIE et al., 2014; JEANBILLE et al., 2016; LIU et al., 2018), la **température** (ZHANG et al., 2014; SUNAGAWA et al., 2015; JEANBILLE et al., 2016; XIANG et al., 2017), le **type de substrat** (sédiments, sols, eau, etc.) (LOZUPONE & KNIGHT, 2007; ZHANG et al., 2014) ou la **saison** (ZHANG et al., 2014; AGUIRRE et al., 2017). A l'échelle du vivant, ces facteurs correspondent à des paramètres environnementaux responsables de pressions de sélection importantes. La salinité peut perturber l'osmolarité cellulaire et entraîner l'éclatement des cellules; la température influence la fluidité et la perméabilité membranaire; la saison influence la disponibilité en nutriments et la luminosité, ce qui a des répercussions sur les métabolismes (photosynthèse, etc.), etc.

Tout comme pour les communautés bactériennes, les facteurs influençant la structuration des communautés archéennes sont multiples. La **latitude** et la **salinité** sont aussi des facteurs structurants pour ces communautés à l'échelle globale (WEBSTER et al., 2015; LV et al., 2016; LIU et al., 2018) et plus encore à l'échelle des écosystèmes estuariens (XIE et al., 2014).

Plus localement, certains auteurs identifient d'autres paramètres comme structurants pour les communautés bactériennes comme archéennes. Ces paramètres dépendent de la temporalité et de la spatialité de l'étude. C'est le cas de l'**oxygène** (AUGUET et al., 2010), le **pH** ou la concentration en **carbone** (TOC, POC ou DOC) (ERGUDER et al., 2009; JEANBILLE et al., 2016; XIANG et al., 2017). Ces trois paramètres, ainsi que la granularité, sont particulièrement importants pour les matrices sédimentaires (JEANBILLE et al., 2016).

Plus précisément en milieu estuarien, d'autres facteurs vont être particulièrement influents sur les communautés microbiennes comme la quantité et la composition des **apports fluviaux** ou le **temps de résidence** des eaux dans l'estuaire (FORTUNATO et al., 2013). Ces deux paramètres sont d'une importance conséquente surtout dans le cadre d'estuaires dominés par l'influence fluviale, tels que les estuaires de type nivo-pluviale (comme l'estuaire de l'Adour).

Au-delà du carbone, d'autres nutriments tels que l'**azote** (N_2 , NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , etc) et de **phosphate** (PO_4^{3-}) peuvent aussi être identifiés comme des facteurs structurants. Plus localement, d'autres nutriments peuvent influencer drastiquement la structure des communautés microbienne, notamment le **soufre** (H_2S , SO_4^{2-} , etc.) (GUO et al., 2018). Certains métabolismes sont hautement impliqués dans les cycles de la matière (organismes dénitrifiants, sulfato-réducteurs, etc.), l'évolution de ces derniers peut directement impacter ces organismes clefs des écosystèmes. Ainsi, les *Thaumarchaeota* et les AOA présentent une distribution forte-

ment corrélée aux faibles concentrations en ammoniac ou en nitrite (LIU et al., 2018).

Les contaminants chimiques correspondent au dernier niveau d'échelle, des facteurs pouvant altérer la composition et la structure des communautés microbiennes. En milieu naturel, la distinction de l'effet des contaminants anthropiques et de celui des variables environnementales sur les communautés microbiennes reste cependant un défi. La variabilité engendrée par les différents facteurs présentés précédemment engendre énormément de bruit de fond dans l'analyse des variables explicatives d'une structure d'une communauté. Ainsi, assez généralement, les paramètres anthropiques (dont les micropolluants) ne sont plus responsables, *in fine*, que d'une relative faible proportion de la variation observée (JEANBILLE et al., 2016; AGUIRRE et al., 2017). Néanmoins, cela n'enlève en rien au fait qu'ils agissent aussi comme des facteurs structurants et en fonction de la nature, de la concentration et la diversité de contaminants présents dans un environnement, ils peuvent s'avérer être localement des facteurs majeurs (SUN et al., 2012; SUN et al., 2013; LIU et al., 2018). Une grande majorité des travaux s'intéressant aux effets des contaminants anthropiques sur les communautés microbiennes sont focalisés sur les métaux (SUN et al., 2012; PINTO et al., 2015; MISSON et al., 2016; XIE et al., 2016; GUO et al., 2017) ou certains contaminants organiques dont les HAP, les PCB ou les pesticides (SUN et al., 2012; XIE et al., 2016; BEN SALEM et al., 2019). Cependant, les travaux de recherche actuels s'intéressent à de « nouveaux » types de contaminants comme les PFOA (perfluoro-alkylés) (SUN et al., 2016) ou alors à des approches multi-contaminants (QUERO et al., 2015; MISSON et al., 2016; BEN SALEM et al., 2019).

1.3.3.3 Microorganismes libres dans la colonne d'eau et attachés aux particules

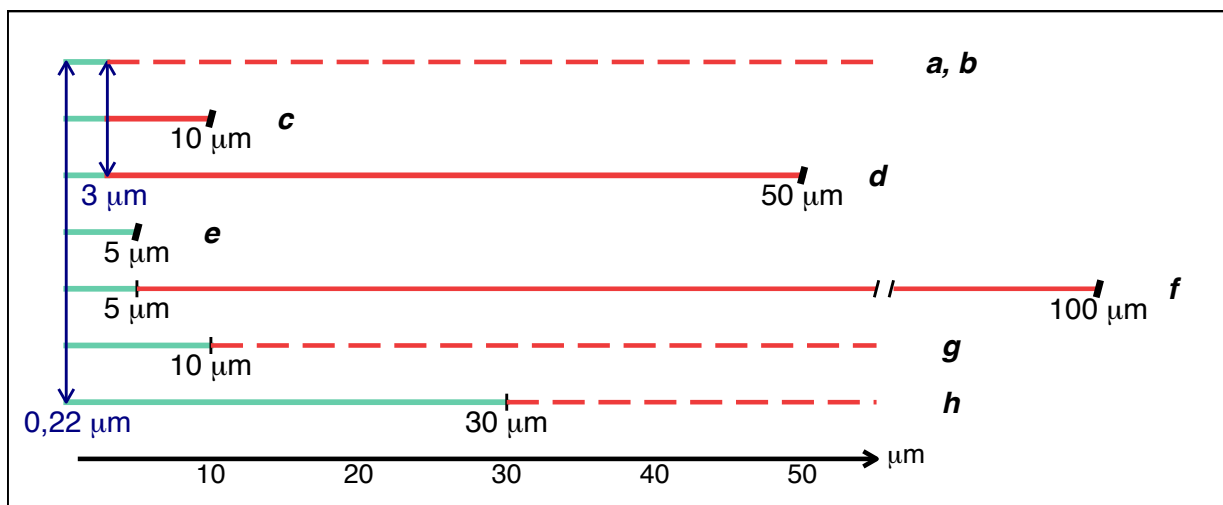
Dans les écosystèmes naturels, la majorité des microorganismes ont un mode de vie sessile, c'est-à-dire, attachés à des supports. C'est notamment le cas pour les organismes colonisant les sols ou l'air. Dans les milieux aquatiques pélagiques, les microorganismes peuvent arborer différents modes de vie distincts. Précisément, on peut distinguer 3 catégories (GROSSART, 2010) :

- les microorganismes **libres** dans la colonne d'eau,
- les microorganismes **attachés**,
- les microorganismes **alternant** entre ces deux modes de vie.

Pour les microorganismes attachés, les supports peuvent être de nature et de dimensions diverses (p. ex. des particules, des agrégats, des colloïdes ou encore d'autres organismes pélagiques). Ces supports sont des niches écologiques d'intérêt majeur pour les microorganismes puisqu'ils peuvent représenter une source de matière organique (POM) ou un habitat protégé où les conditions abiotiques varient moins abruptement. Les microorganismes attachés de façons temporaires ou permanentes aux particules sont impliqués dans l'hydrolyse et la dégradation de la matière organique, ainsi que dans son transfert dans la boucle microbienne sous forme dissoute (DOM).

Ces différents habitats, bien que connectés, vont présenter des communautés microbiennes distinctes (CRUMP et al., 1999 ; D'AMBROSIO et al., 2014 ; MOHIT et al., 2014 ; RIECK et al., 2015), et à chacun, différentes capacités métaboliques pourront être associées (CRUMP et al., 1998 ; SIMON et al., 2014). Le degré de distinction entre les communautés microbiennes attachées aux particules ou libres dans la colonne d'eau serait principalement fonction de la nature, de l'origine, de l'intégrité des particules et du temps de résidence de ces dernières (RIEMANN & WINDING, 2001 ; D'AMBROSIO et al., 2014).

Dans le cas des eaux estuariennes, on s'attend à observer entre les microorganismes libres et ceux attachés aux particules, deux groupes phylogénétiquement distincts (CRUMP et al., 1999 ; LAPOUSSIÈRE et al., 2011 ; SMITH et al., 2013 ; LI et al., 2018 ; LIU et al., 2020b). Dans ces milieux, le temps de résidence des particules plus important que dans d'autres (comme les zones côtières) favoriserait la formation de deux communautés bien distinctes (CRUMP et al., 1999 ; SMITH et al., 2013). Néanmoins, dans le cadre de ces travaux de thèse, rappelons que l'estuaire de l'Adour peut présenter de très faibles temps de résidence des masses d'eau en fonction des conditions hydrologiques. Plus généralement, la distinction de ces différents modes de vie est essentielle à l'analyse et la compréhension des communautés microbiennes aquatiques (GROSSART, 2010 ; BACHMANN et al., 2018). Cependant, aucun consortium n'a clairement été mis en place dans le but de généraliser l'étude des communautés microbiennes pélagiques. A titre d'exemple, la limite arbitraire mais nécessaire que l'on fixe pour dissocier les microorganismes libres de ceux attachés varie en fonction de l'étude réalisée (Figure 1.19).



a : Luria et al., 2016 ; b : Bachmann et al., 2018 ; c : Crump et al., 1999 ; d : Mohit et al., 2014 ; e : Henriques et al., 2004 ; f : Rieck et al., 2015 ; g : Riemann et Winding, 2001 ; h : Fuchsman et al., 2011

FIGURE 1.19 – Illustration des limites employées dans la littérature scientifique afin de dissocier les microorganismes libres dans la colonne d'eau (en vert) et les microorganismes attachés aux particules (en rouge). Les lignes en pointillées indiquent qu'aucune limite supérieure à la fraction n'est précisée.

Certains auteurs vont jusqu'à négliger la fraction attachée aux particules et éliminent la majorité des particules en pré-filtrant leurs échantillons.

1.4 Interactions entre les contaminants et le compartiment microbien

Le lien existant entre les micro-organismes et les micropolluants a été exploré de manière inégale au regard des types de contaminations. Les métaux ont d'abord été une première source d'inquiétudes motivant une recherche intensive et a été suivie par l'intérêt social portée aux polluants organiques (comme les HAP, les pesticides ou encore les POP). Parallèlement, le développement des capacités analytiques et l'essor de l'industrie chimique ont très largement contribué à l'augmentation du nombre de molécules détectées dans l'environnement. Une dichotomie s'installe alors entre des contaminations dont les concentrations sont de moins en moins importantes et une diversité de molécules produites et détectées grandissante. Cette partie présentera les concepts et notions nécessaires à l'appréhension de l'interaction entre des contaminants et les microorganismes. Le but ici n'est pas de présenter une liste des types d'interactions pouvant s'installer entre ces deux compartiments mais plutôt de présenter les mécanismes et outils généraux nous permettant d'observer et de décrire ces interactions.

1.4.1 La pollution : un facteur de stress pour les communautés microbiennes ?

Depuis plusieurs siècles, l'Homme a profondément modifié les biotopes. A partir du XX^{ème} siècle, l'emploi et le déversement de substances nocives n'ont cessé d'augmenter. De nombreux écosystèmes ont été impactés par cette pollution. Ces contaminants chimiques sont pour des nombreux organismes une source de stress pouvant affecter la composition ou la structure des biomes. Rappelons que les estuaires peuvent être considérés comme des environnements stressants et cela sans influence anthropique. L'amplitude et la fréquence des conditions environnementales (salinité, flux de nutriment, oxygène, etc.) confèrent aux estuaires une très haute variabilité intrinsèque (ELLIOTT & QUINTINO, 2007). Les micropolluants peuvent alors être vus comme un **stress supplémentaire** pouvant perturber les microorganismes ou plus encore l'équilibre de l'écosystème.

- Qu'est-ce que le stress ?

Il existe deux notions correspondant à la définition d'un stress (FORBES & CALOW, 1997). La première correspond à la définition d'un stress selon Sibly et Calow (1989), le présentant comme « *une condition environnementale (aussi appelée **stresseur**) qui lors de sa première application altère la fitness* ». Rappelons que la **fitness**, aussi appelée **valeur sélective** est l'un des concepts établis par la théorie de l'évolution. Elle correspond à la capacité d'un individu à se reproduire et est la résultante de deux paramètres : la survie et la fécondité. Autrement, d'autres auteurs tels que Bayne (1975), on définit le stress comme « *une altération mesurable d'un état d'équilibre physiologique (ou comportemental, biochimique, etc.) induit par un changement environnemental et qui rend l'individu (ou la population ou la communauté) plus vulnérable à de nouvelles variations environnementales* » (WIDDOWS, 1978; FORBES & CALOW, 1997). Ainsi, le terme

de stress fait donc référence de manière indissociée au facteur environnemental provoquant une réponse biologique et la réponse biologique elle-même (FORBES & CALOW, 1997).

Actuellement, la notion de stress arbore généralement une dimension négative. Il est essentiellement observé par le prisme du premier niveau de définition décrit plus haut (soit le facteur environnemental provoquant une réponse biologique). Alors qu'avant toute chose le stress est une **réponse adaptative** nécessaire d'un organisme, d'une population, d'une communauté ou d'un écosystème à la suite d'un imulus. Cette réponse adaptative est essentielle au maintien de l'**homéostasie**, c'est-à-dire la capacité à tolérer ou s'adapter au niveau biologique à un stress (ELLIOTT & QUINTINO, 2007).

- Comment un stress peut restructurer une communauté microbienne ?

Un stress peut impacter un organisme de différentes façons. Soit directement, le stimulus va venir perturber l'**homéostasie** de l'organisme et affecter directement sa fitness. Soit indirectement en influençant celles d'autres organismes au sein de la communauté microbienne (SHAW et al., 2020) (ou de l'écosystème plus généralement) affectant les interactions comme la compétition (HIBBING et al., 2009), le mutualisme (FIGUEIREDO & KÜMMERLI, 2020) ou la prédation (HUNGATE et al., 2021) au sein de la communauté. Bien évidemment, l'altération de la fitness d'un organisme au sein de la communauté peut aussi s'avérer profitable à d'autres. Différents aspects de la réponse des communautés microbiennes à un stress seront aborder plus en détails dans le Chapitre 1.4.4.

- L'importance du stress chimique

Ainsi, l'ensemble des micropolluants introduits dans les écosystèmes peut être décrit comme un stresser potentiel. En fonction de leur nature, spéciation et concentration (l'intensité du stress) ou de leur fréquence d'introduction dans l'environnement, ils peuvent être amenés à altérer la fitness des organismes et/ou l'équilibre de l'écosystème (AGER et al., 2010). Ceci est généralement vrai quelle que soit la nature de la perturbation anthropique. Nonobstant, dans le cas des micropolluants d'autres interrogations s'imposent. Premièrement, comme indiqué plus haut, la contamination chimique actuelle est caractérisée par les faibles concentrations en contaminants, par l'aspect chronique de ces contaminations mais aussi par la diversité de composés xénobiotiques retrouvés les environnements. Or pour l'heure, les effets combinés de différents stress restent globalement méconnus. D'autre part, l'apparition de contaminants émergents (cf. Chapitre 1.2.4.2) est aussi source d'interrogation.

- Les microorganismes et le stress chimique en milieu estuarien

Comme indiqué précédemment, les écosystèmes estuariens sont des environnements hautement stressants. L'homéostasie dans ce contexte peut être décrite « comme la capacité de l'estuaire à atteindre/maintenir un état stable en compensant les changements de l'environnement » (ELLIOTT & QUINTINO, 2007). On peut s'interroger sur l'impact des contaminants dans ce contexte estuarien. Vont-ils représenter un stress supplémentaire pour les microorganismes estuariens ou est ce que grâce à leur capacité d'homéostasie, ces

organismes résisteront à ce stress supplémentaire ?

En outre, les microorganismes sont sensibles aux variations environnementales, de par leur temps de génération, leur position au sein des réseaux trophiques (boucle microbienne) et leur plasticité génotypique. En cela, l'étude du dynamisme des communautés microbiennes représente un outil précieux dans l'évaluation des conséquences des perturbations anthropiques sur l'état de santé des écosystèmes (AGER et al., 2010; SUN et al., 2012). D'ailleurs, de par la sensibilité de ce compartiment, leur étude approfondie pourrait nous conférer une meilleure capacité de prédiction des processus écosystémiques (GRAHAM et al., 2016).

1.4.2 Notion de biodisponibilité environnementale

Pour estimer l'impact d'un stress chimique, il est essentiel de garder en mémoire que **tout ce qui est présent n'est pas forcément disponible**. La concentration totale d'un contaminant n'est pas à elle seule une condition suffisante pour conduire un effet toxique sur un organisme ou un écosystème. Dans les écosystèmes, les mécanismes physiques, chimiques ou biologiques pourront interagir avec les contaminants et les rendre plus ou moins accessibles ou toxiques. Ainsi, la fraction d'un élément pouvant être absorbée par un organisme vivant permet de définir sa **biodisponibilité environnementale** (RECORD, 2012; OCDE, 2017).

Dans le cadre des métaux et organométaux, la **spéciation**, c'est-à-dire l'ensemble des formes chimiques et physiques d'un élément en solution, est l'un des facteurs clés de l'appréciation de disponibilité d'un élément. Reprenons l'exemple du mercure déjà abordé dans le Chapitre 1.2.3, le mercure présente une toxicité bien supérieure sous sa forme méthylée (CH_3Hg^+) qu'inorganique (Hg^{2+}). Pour cause, les organomercuriels traversent plus aisément les membranes biologiques et présentent d'importantes capacités de **bioaccumulation** et de **bioamplification**.

Autrement, au-delà de la toxicité associée à un composé, la spéciation d'un ETM paramètrera aussi sa migration ou sa disponibilité (DE PAIVA MAGALHÃES et al., 2015). Ainsi, l'association d'un ETM avec des ligands organiques peut, au moins temporairement le rendre inaccessible et donc non toxique pour le vivant.

De manière semblable, la **biodisponibilité environnementale** des contaminants organiques, est fonction de la matière organique présente dans le milieu. Celle-ci présente une grande capacité d'adsorption. Selon leur polarité, les contaminants seront plus ou moins piégés et rendus ainsi indisponibles par voie directe pour le biote. On estime qu'une fois complexés à la matière organique, les contaminants se retrouveront sous la forme de macromolécules complexes qui ne pourront plus traverser les membranes cellulaires, limitant ainsi leur disponibilité. Bien évidemment la nature de la matière organique jouera un rôle prépondérant sur les modalités du stockage (présence de colloïdes, importance de la fraction fine). Rappelons, que les complexes formés entre contaminants avec la matière organique ne sont pas pérennes. En fonction des conditions environnementales comme la température, la variation de la composition de la matière organique ou le pH,

c'est la situation inverse qui peut avoir lieu, soit la libération de contaminants par les matrices organiques (DE PAIVA MAGALHÃES et al., 2015).

Cet aspect de biodisponibilité a été étendu à d'autres notions dont la **bioaccessibilité** (INERIS, 2009; OCDE, 2017; PETRUZZELLI et al., 2020). Le terme de bioaccessibilité désigne la fraction d'un composé biodisponible qui va réellement interagir avec la surface d'un organisme et va être potentiellement disponible pour l'adsorption ou l'absorption par l'organisme (OCDE, 2017). Surtout, dans le cas des microorganismes, certains auteurs ajoutent à cette notion, une temporalité, ainsi la bioaccessibilité fera référence à la fraction d'une substance présente dans l'environnement et qui sera disponible, sur le long terme, pour une absorption par les organismes (SEMPLE et al., 2004; INERIS, 2009).

1.4.3 Différents niveaux d'impacts : de la cellule à la communauté

Il existe de nombreuses études s'intéressant aux impacts d'une perturbation/stress chimique sur les communautés microbiennes. Ces impacts existent à de multiples niveaux : moléculaire, cellulaire, communautaire ou écosystémique. Ces différents niveaux d'impact ne sont pas isolés mais emboîtés (molécule > cellule > communauté > écosystème).

Prenons l'exemple de la contamination métallique, certains métaux non essentiels présentent des propriétés physiques ou chimiques (et une spéciation) similaires aux métaux essentiels. Ces métaux peuvent ainsi pénétrer les cellules par le biais de transporteurs membranaires non spécifiques comme les MIT (*Metal Inorganic Transport*) intervenant dans l'entrée de nombreux cations (Ni^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , etc.) (PAULSEN et al., 1998). Ces composés non essentiels peuvent alors perturber la cellule (l'homéostasie métallique premièrement) et s'avérer toxiques. De nombreux organismes possèdent des mécanismes de contrôle de l'homéostasie métallique voire de détoxification. Ainsi, la présence d'un composé à l'échelle moléculaire entraînera une réponse au niveau cellulaire. Cependant, les mécanismes de contrôle des métaux ne sont pas distribués de manière équivalente au sein des microorganismes (HAO et al., 2021). Certains organismes sont plus résistants au stress métallique que d'autres (ROOSA et al., 2014; JACQUIOD et al., 2018; LI et al., 2020; HAO et al., 2021). La présence de métaux dans l'environnement agira ainsi comme une pression de sélection sur les communautés, favorisant les organismes les plus aptes à tolérer ce stress chimique (HAO et al., 2021). Ainsi, c'est la composition et la structure d'une communauté qui pourra être altérée. Si la structure des communautés est impactée, l'équilibre de l'écosystème pourra lui aussi être modifié (en fonction des services écosystémiques assurés par la communauté et fonction de sa position au sein de l'écosystème) (ALLISON & MARTINY, 2008; SHADE et al., 2012; GRAHAM et al., 2016).

En conséquence, l'estimation des risques associés à un contaminant est elle aussi réalisée à différentes échelles : *in vivo* en laboratoire, en microcosme, en mésocosme ou *in situ* sur le terrain. Chacun de ces niveaux de lecture de l'impact d'un stress chimique présente des avantages et des inconvénients. Les approches de la-

boratoire vont permettre de travailler en environnement contrôlés et pourront plus clairement mettre en évidence une relation entre les contaminants et les microorganismes (sensibilité, capacité métabolique, tolérance ou transformation). Cependant, ces observations sont difficilement exportables aux niveaux supérieurs (population, communauté, écosystème). A l'inverse, les approches de terrains bien que plus pertinentes pour niveaux d'organisation supérieurs peinent à se défaire de la variabilité naturelle des organismes et écosystèmes (SILVESTRI et al., 2017). Cela étant, cette diversité des approches scientifiques reste essentielle dans la recherche en écotoxicologie et en écologie. Bien qu'elles présentent d'importantes contraintes, les études sur le terrain et à des échelles d'organisation supérieures sont actuellement essentielles dans notre compréhension des effets des contaminants sur les écosystèmes. Elles sont à la fois essentielles en écologie, en écotoxicologie ainsi qu'en gestion et management de l'état de santé des écosystèmes.

1.4.4 Types de réponse d'une communauté microbienne à une perturbation

La pollution est un facteur pouvant, en fonction de la nature, de la concentration et de la biodisponibilité d'un contaminant à stresser, altérer ou perturber les communautés microbiennes (JOHNSTON & ROBERTS, 2009; JACQUIOD et al., 2018; LI et al., 2020; HAO et al., 2021). On peut dès lors assez légitimement se demander comment ces communautés « réagissent » en présence d'une pollution. Pour chaque contaminant, chaque environnement et chaque communauté, cette réponse peut être multiple et hautement complexe. Néanmoins certains concepts (tels que la résistance, la résilience, ou la redondance) permettent de modéliser différents modes de réponse à la suite d'un stress. Ces concepts seront ici définis et décrits dans le cadre d'un stress s'appliquant à une communauté microbienne mais ils ne sont pas propres à ce seul compartiment biologique.

- Résistance, résilience et sensibilité

La **résistance** peut être définie comme le degré de perturbation pour lequel la communauté microbienne reste inchangée, la résistance peut alors être assimilée à une insensibilité à une perturbation. Elle repose dans le cas des microorganismes sur leur importante tolérance physiologique et surtout leur haut degré de flexibilité métabolique (ALLISON & MARTINY, 2008; SHADE et al., 2012). La **résilience** correspond à la **vitesse** à laquelle la communauté microbienne retourne à son **état initial après** une perturbation (ALLISON & MARTINY, 2008; PHILIPPOT et al., 2021). Les capacités de résilience d'une communauté microbienne sont dépendantes de l'abondance, la dispersion et le taux de croissance des organismes qui la composent (ALLISON & MARTINY, 2008; SHADE et al., 2012).

Cette définition de la résilience est à distinguer de la notion de **résilience écologique**. Celle-ci correspond à la mesure de la perturbation nécessaire à faire basculer un système vers des **états stables alternatifs** (PHILIPPOT et al., 2021). Cette définition est dépendante des concepts d'**équilibre multiple** et de « **landscape stability** » (*paysage de stabilité*) (SHADE et al., 2012), soit l'existence de multiples états stables pour

un même système.

Ces deux procédés (résistance et résilience) ne sont pas indépendants, à l'inverse, ils agissent de concert. En effet, pour une communauté à un instant donné et pour un espace donné, on peut définir la **sensibilité**. Celle-ci est la résultante de la combinaison de la capacité d'une communauté à **tolérer** une perturbation (**résistance**) et de sa capacité à retourner à son **état initial** après la perturbation (**résilience**). Un assemblage microbien peut soit être résistant face à une perturbation et la composition restera inchangée, soit être sensible, provoquant une altération de composition microbienne (Figure 1.20). De nouveau, l'assemblage microbien pourra ensuite, soit être résilient et retourner à la composition initiale, soit aboutir à une autre composition microbienne qui peut correspondre d'ailleurs à un état stable alternatif (ALLISON & MARTINY, 2008).

- Redondance fonctionnelle

Les conséquences de cette sensibilité face à une perturbation peuvent être très variées. On peut distinguer deux cas de figure principaux selon si les services écosystémiques assurés par l'assemblage microbien initial sont ou non maintenus. Dans le premier cas, les conséquences écosystémiques de la perturbation sont quasi nulles. L'assemblage microbien assurant ses fonctions initiales, l'équilibre de l'écosystème est maintenu. Dans le cas contraire, c'est l'intégralité de l'écosystème, de ses fonctions et de sa structuration qui pourront à terme être perturbés voire perdus. La **redondance fonctionnelle** peut être définie pour un environnement donné, comme la capacité de deux ou plusieurs taxons ou génomes d'effectuer un même processus ou fonction écosystémique de manière similaire (ALLISON & MARTINY, 2008 ; LOUCA et al., 2018). Ainsi, un assemblage microbien altéré pourrait assurer les mêmes fonctions écosystémiques (et dans les mêmes proportions) que l'assemblage initial. Bien que l'assemblage microbien ait vu sa composition changée, l'équilibre de l'écosystème restera lui identique.

Il est important de noter qu'en théorie, une forte biodiversité permet d'augmenter les capacités d'une communauté microbienne à résister, à revenir à son état initial (résilience) ou à maintenir ces services écosystémiques malgré une variation de la composition après une perturbation (ZINGER et al., 2012).

1.4.5 Outils de mesure des perturbations au sein des communautés microbiennes

Jusqu'à présent, différents aspects du stress ont été abordés :

- les notions et concepts (stress, résistance, résilience, fitness, biodisponibilité) permettant de définir un cadre à l'interaction entre les micropolluants et le compartiment microbien.
- les type de réponses des microorganismes à cette pression anthropique.

Cette dernière partie s'intéressera aux **outils** disponibles à la mesure de ce stress sur les communautés

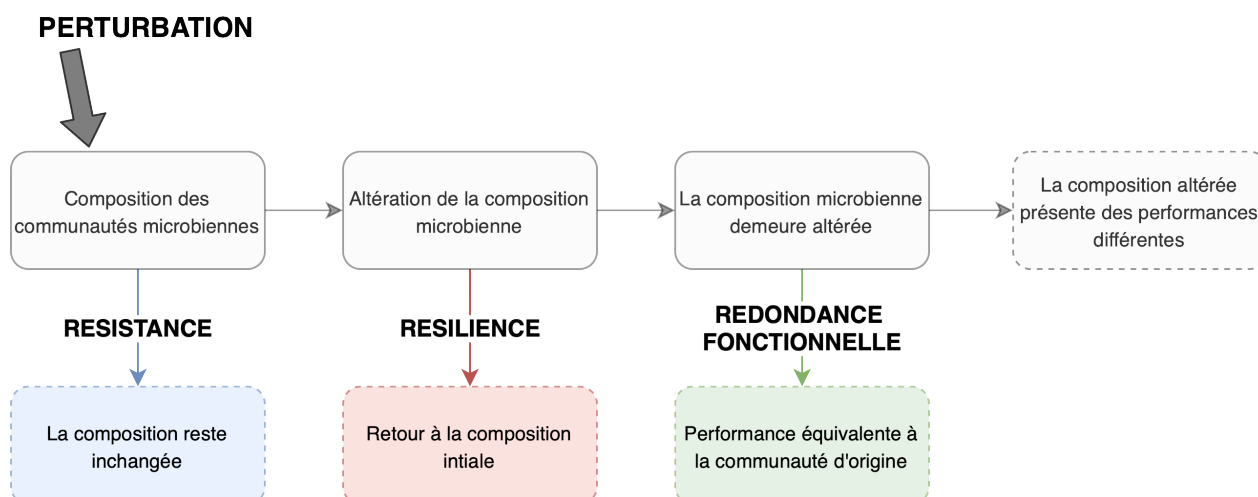


FIGURE 1.20 – Illustration de l'impact potentiel d'une perturbation sur la composition d'une communauté microbienne et/ou les capacités écosystémiques d'après ALLISON & MARTINY (2008).

microbiennes.

1.4.5.1 La diversité

La **diversité** des organismes colonisant un milieu a longtemps été (et reste) une des questions centrales de l'écologie. En fonction de sa dimension d'étude, cette diversité a été scindée en 3 niveaux : **alpha**, **bêta** et **gamma** (Figure 1.21). Assez simplement, ces différents niveaux de diversité décrivent différents niveaux d'interaction biologique (de l'individu au communautaire). La diversité alpha correspond au nombre d'espèces présentes pour un site ou échantillon donné ; la diversité bêta détermine la différence de diversité ou de composition entre deux sites ou échantillons (similarité ou dissimilarité). Enfin, la diversité gamma correspond à la diversité d'une région, elle est très similaire à la diversité alpha mais prend en compte une zone plus large (ZINGER et al., 2012).

Dès les prémices de l'écologie, la caractérisation de la diversité réelle d'un écosystème fut rapidement freinée par les problèmes d'estimation. En effet, prédire une diversité réelle à partir d'un échantillon (diversité) reste une approche biaisée (WILLIS, 2019), l'échantillon n'étant pas le reflet exact d'un milieu. Le recours à des estimateurs appelés **indices de biodiversité** permet de corriger ce biais d'échantillonnage. Ces indices permettent de calculer :

- la **richesse spécifique** soit le nombre d'organismes présents dans un site/échantillon ;
- la **richesse spécifique estimée** (le **Chao1**, l'indice de **Pielou**, l'**ACE** pour *abundance-based coverage estimators*, etc.) soit le nombre corrigé d'organismes présents dans une communauté, prenant en compte les biais d'échantillonnages (HUGHES et al., 2001) ;
- l'**équité**, soit la richesse estimée corrigée par les abondances relatives des différents groupes. Ici

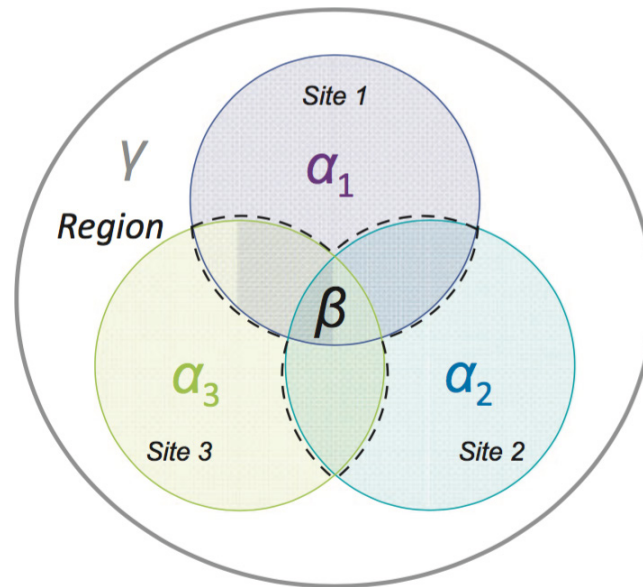


FIGURE 1.21 – Représentation schématique de la diversité alpha (violet, vert ou bleu), bêta (pointillé noir) et gamma (gris) d'après ZINGER et al., 2012.

on ne s'intéresse plus simplement au nombre d'espèces/OTU/ASV mais à leurs proportions respectives dans différents échantillons (**Shannon**, **Simpson**, etc.).

La diversité en tant que telle reste un outils épineux, son calcul passe par de nombreux estimateurs qui présentent chacun des qualités comme des inconvénients (HUGHES et al., 2001). De plus, l'interprétation de la diversité peut s'avérer bien plus complexe voire piégeant qu'attendu. Néanmoins, la diversité et ses estimateurs permettent la comparaison de différents échantillons, communautés ou écosystèmes. Ainsi, elle reste un outil précieux dans la mesure de la perturbation de la composition microbienne face à un stress.

1.4.5.2 Diagnostic du fonctionnement des écosystèmes

Comme abordé précédemment, un stress peut perturber une communauté microbienne, altérer sa composition sans que cela ne perturbe l'écosystème, il s'agit de la **redondance fonctionnelle** (ALLISON & MARTINY, 2008; SHADE et al., 2012). Ainsi, les outils cités précédemment ne seront pas en mesure d'identifier ce procédé. Pour ce faire, il faut être en mesure de caractériser les fonctions développées par une communauté microbienne (FUHRMAN, 2009). Ici, encore différents outils existent, ils explorent à différentes échelles et selon différentes méthodes les capacités fonctionnelles d'une communauté microbienne (SRIVASTAVA et al., 2019). L'un des outils les plus simples est la **PCR** ou **qPCR** de gènes fonctionnels (p. ex. *amoA*, *dsrB*, etc.). Les gènes étudiés informent de la présence ou non d'une fonction. Cette approche reste limitée à l'étude de quelques gènes voire plusieurs dizaines (ROOSA et al., 2014; GUO et al., 2018).

Pratiquement, à l'opposé, on trouvera la **metagénomique** qui permet d'identifier les voies métaboliques potentielles présentes dans un ou plusieurs génomes (cf. Chapitre 1.3.1) (SUNAGAWA et al., 2015). Ici, les

capacités fonctionnelles détectées au sein d'une communauté ne se limiteront plus à la vingtaine de gènes. Cependant, cette approche nécessite d'importantes ressources financières et techniques et n'est pour l'heure pas généralisée.

A l'intermédiaire, on retrouvera les **puces à ADN**, déjà abordés au Chapitre 1.3.1. Comme les PCR et qPCR, les puces à ADN sont limitées, on ne peut distinguer que les gènes fonctionnels programmés sur les puces. L'avantage de ces puces est qu'elles sont dimensionnées afin de pouvoir détecter des dizaines de milliers de gènes (HE et al., 2007).

On peut voir ici, qu'il n'existe pas réellement d'outil idéal. Chacun présente des avantages et des inconvénients. Mais tous ont le mérite de permettre d'identifier et de tenter d'élucider les capacités fonctionnelles développées par les microorganismes. Pour l'ensemble de ces méthodes, on est directement dépendants des nombreuses avancées concernant entre autres la caractérisation des voies métaboliques (ZHAO & LI, 2017; FU et al., 2017) ou encore l'identification et/ou la sélection de gènes fonctionnels (IMHOFF, 2016).

Chapitre 2

Matériel et méthodes

2.1 Site d'étude et stratégie d'échantillonnage

2.1.1 L'estuaire de l'Adour et sites de prélèvements

Comme détaillé au sein du Chapitre 1.1.4, l'estuaire de l'Adour est situé dans le sud-est de la France, en région Nouvelle-Aquitaine. Il est principalement alimenté par deux fleuves : l'**Adour** et la **Nive**, tous deux prenant leur source dans les Pyrénées-Atlantiques. Il s'agit d'un **estuaire mésotidal** présentant un régime **pluvio-nival**. Il se caractérise principalement par un **tissu urbain dense** (villes de Bayonne, Anglet et Biarritz principalement) s'installant dans la partie aval de l'estuaire.

Les sites de prélèvements ont été définis de manière à échantillonner l'ensemble de la zone estuarienne s'étendant de la **limite d'intrusion saline** (cf. Chapitre 1.1.1.2.4) à l'embouchure. Dans le cadre de l'estuaire de l'Adour, cette limite est définie approximativement au niveau de la ville d'**Urt** sur l'Adour et celle d'**Ustaritz** sur la Nive (Figure 2.1).

Au cours de chaque campagne, **14 sites** (labellisés de 1 à 10 et de A à D) s'étendant sur l'ensemble de la zone estuarienne ont été échantillonnés. Ces sites sont regroupés en 3 catégories :

- Les **sites « Amont »** (Figure 2.2) : situés à l'amont de la zone estuarienne sur la rivière Adour (**1** et **2**) et la Nive (**3** et **4**). Ce sont les sites de référence, ils sont considérés comme moins impactés par les micropolluants domestiques et industriels, car positionnés en amont de la zone urbaine. Ils devraient être présentés un signal dulcicole (en fonction du coefficient de marée et du régime fluvial).

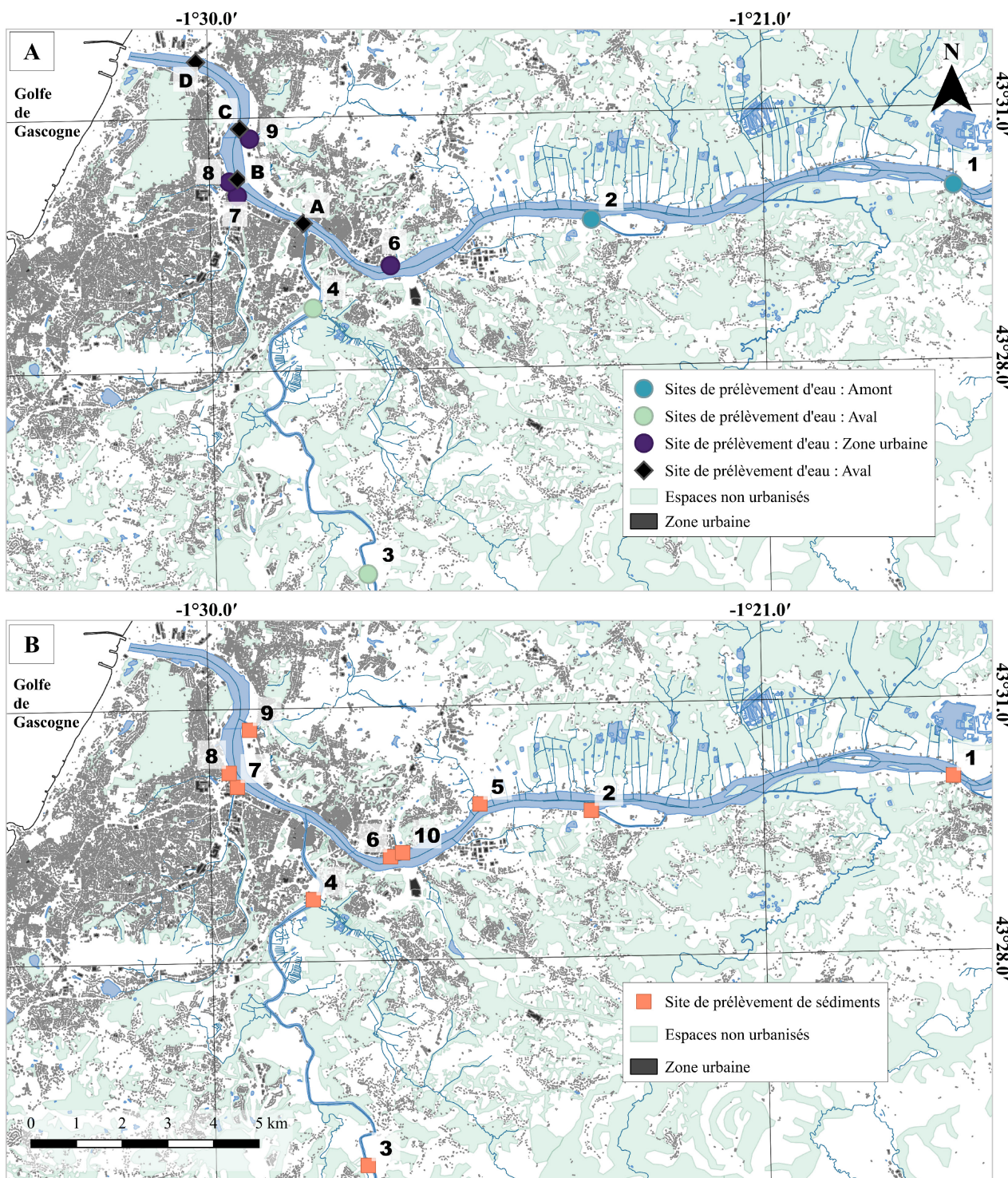


FIGURE 2.1 – Carte de la localisation des sites d'échantillonnage le long de l'estuaire de l'Adour indiquant les sites de prélèvements d'eau (A) et les sites de prélèvements de sédiment (B).

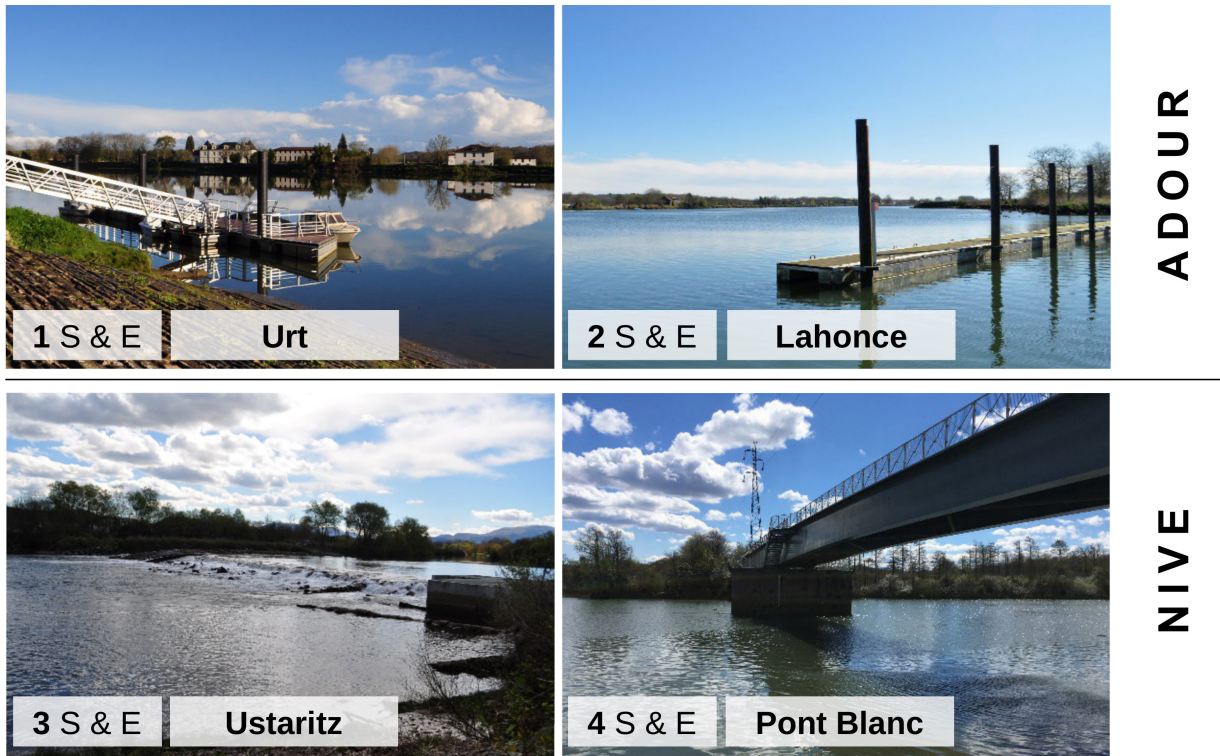


FIGURE 2.2 – Photographies des sites de prélèvements « Amont ». Les lettres **S** indiquent que les prélèvements sont de natures sédimentaires, et **E** qu'il s'agit de prélèvements d'eau.

- Les sites « **Urbain** » (Figure 2.3) : allant des sites **5** à **10**.

Situés au cœur de l'estuaire et surtout du tissu urbain dense de Bayonne-Biarritz-Anglet. Ces sites correspondent aux sites vus comme « potentiellement impactés », les prélèvements ont été réalisés à proximité d'effluents urbains et industriels.

Précisément, les sites **6**, **8** et **9** correspondent à des prélèvements effectués à proximité des stations de traitement des eaux usées (STE) de S^t-Frédéric, du Pont de l'Aveugle et de S^t-Bernard, chacune de capacités différentes (de respectivement 119 609, 47 017 et 9 889 équivalent habitants, EH, en 2018¹) et recevant des eaux usées de nature différente (cf. Chapitre 1.1.4.3 et le tableau 1.2).

Les sites **7** et **8** sont situés à proximité d'effluents urbains se déversant dans les ruisseaux Maharin et Aritxague. Ces affluents sont à proximité de la STE Pont de l'Aveugle.

Le site **5** positionné en contre bas de l'ancienne décharge de Bacheforès et le site **10** à proximité d'une autoroute, en amont de la STE Saint Frédéric.

1. Portail d'information sur l'assainissement communal du Ministère de la Transition écologique et Solidaire. Disponible à l'adresse : <http://assainissement.developpement-durable.gouv.fr>. Consulté le 20 septembre 2020.

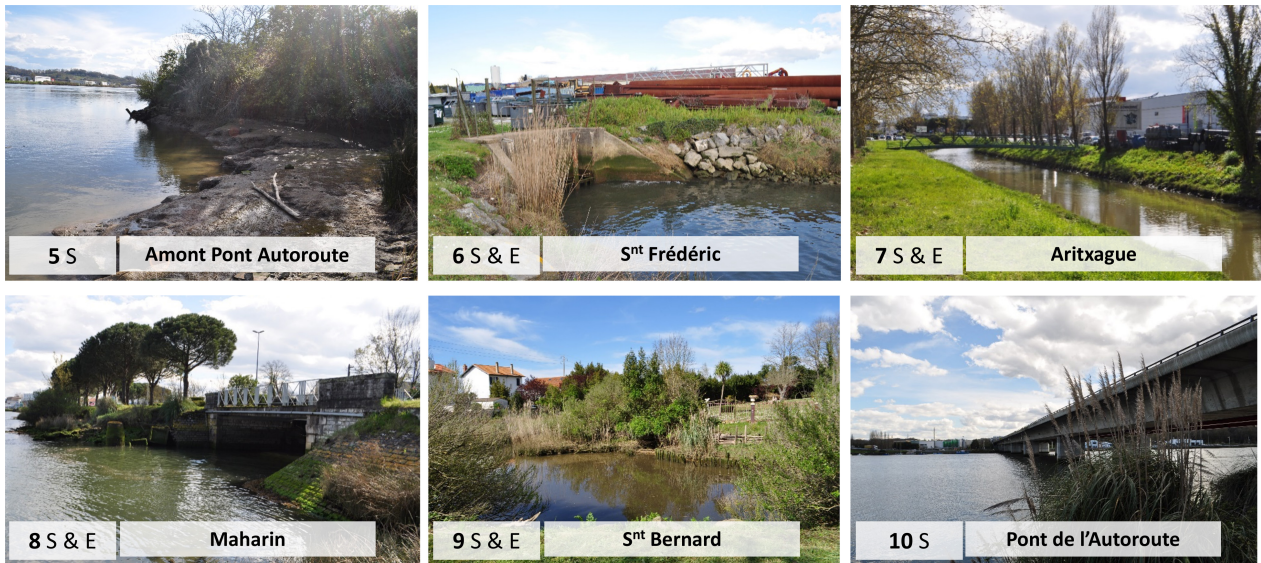


FIGURE 2.3 – Photographies des sites de prélèvements « Urbain ». Les lettres **S** indiquent que les prélèvements sont de natures sédimentaires, et **E** qu’il s’agit de prélèvements d’eau.

- Les sites « Aval » : **STA** à **STD** positionnés de la zone de confluence à l’embouche (en noir dans la figure 2.1). Ce sont les sites situés dans la partie la plus aval de l’estuaire. L’échantillonnage a été effectué par bateau, les prélèvements sont réalisés à subsurface dans le cœur du chenal. Ils correspondent à un signal microbien théoriquement sous influence de l’écosystème marin. De plus, on peut s’attendre à observer au moins pour certains composés chimiques un effet de dilution.

Il est important de prêter attention aux différents types de prélèvement réalisés au cours de ce projet de thèse. On peut distinguer, des prélèvements de sédiments ou prélèvements d’eaux (subsurface) effectués depuis les berges, des prélèvements d’eaux (subsurface) effectués depuis un bateau dans le chenal. Pour plus de clarté, le type de prélèvement opéré à chaque station est précisé dans le tableau 2.1.

TABLEAU 2.1 – Détail des matrices prélevées pour chaque site. Les couleurs correspondent aux couleurs employées dans la figure 2.1, soit la carte de la localisation des sites de prélèvements.

Sites	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	A	B	C	D
Sédiments	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X				
Eaux														
Berges	X	X	X	X		X	X	X	X					
Chenal											X	X	X	X

2.1.2 Les campagnes ADOUR

Les campagnes d’échantillonnage sont au nombre de trois. Elles sont nommées “AD” suivit d’un numéro compris entre 1 et 3. Elles ciblent respectivement trois saisons différentes :

- AD1 : le **printemps** ciblant les crues et post-crues printanières,
- AD2 : l'**été** ciblant les températures plus hautes et l'étiage,
- AD3 : et l'**hiver** ciblant les températures plus faibles et des crues éventuelles.

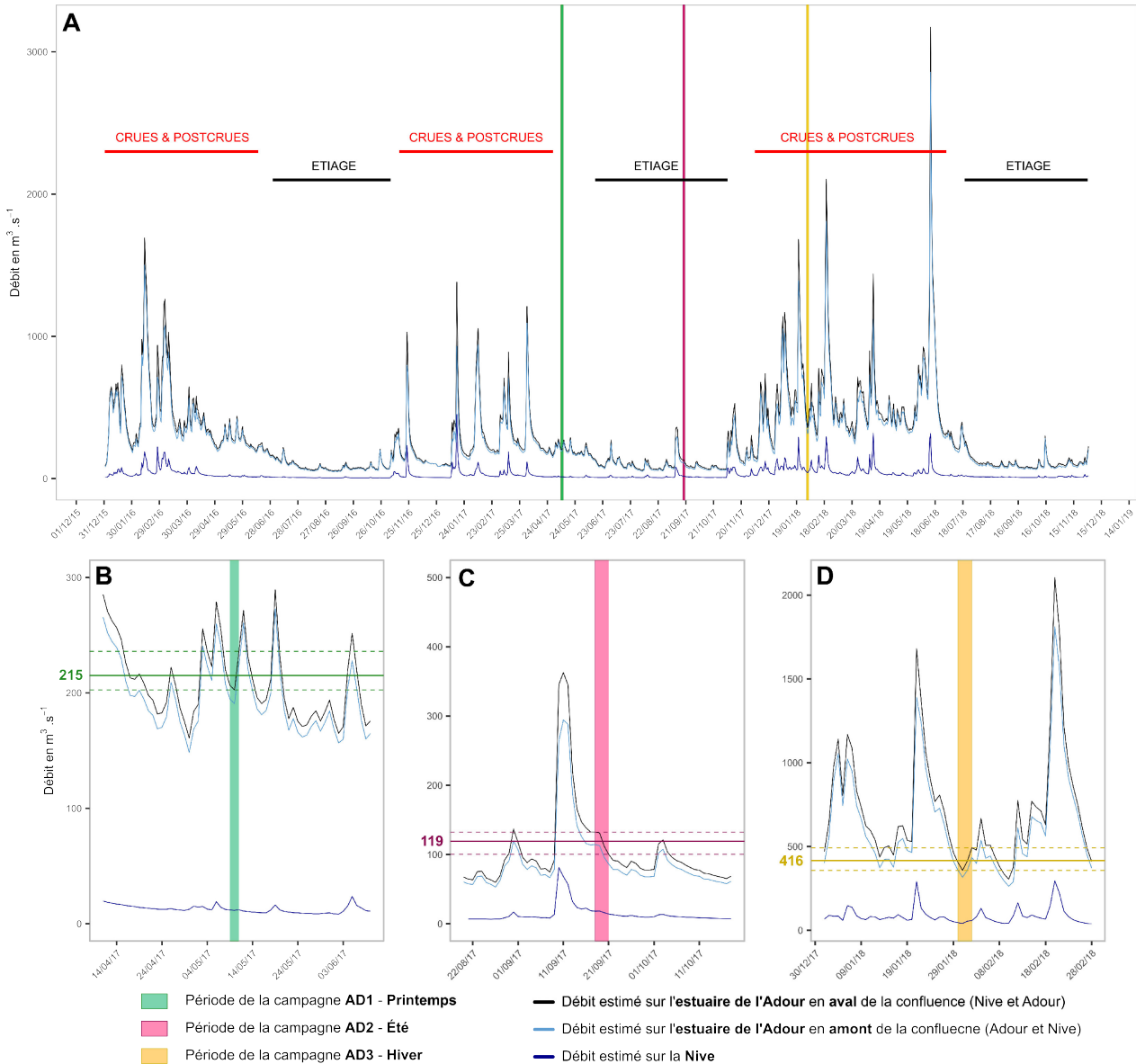


FIGURE 2.4 – Débit fluvial estimé (en $\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) d'après les données de la banque HYDRO (cf. note page 43) entre 2016 et 2018 (A) et en zoomant sur les trois périodes d'échantillonnages, AD1 au printemps (B), AD2 en été (C) et AD3 en hiver (D). En vert, rose et jaune sont respectivement indiqués les périodes d'échantillonnages des campagnes AD1, AD2 et AD3. Par un trait en gras et en pointillé, sont respectivement indiqués les valeurs moyennes et minimums/maximums du débit estimé en aval de la confluence (Adour et Nive).

Les paramètres physico-chimiques (tels que la température, la conductivité, la concentration et la saturation en oxygène dissous, le pH, etc.) ont été mesurés *in situ* avec une sonde multiparamétrique HANNA Instrumentsc® HI-9829 préalablement calibrée. A posteriori, la salinité fut calculée à partir de la température

(°C) et la conductivité ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$). La salinité et la température de l'eau étaient respectivement comprises entre 0,1 (AD1, site 3) et 24,2 (AD1, site 9) psu et entre 7,9 (AD3, site 9) et 20,8°C (AD2, site 6) (Annexes, Figure A2.1A et A2.1B). L'ensemble des échantillons (d'eau et de sédiments) collectés l'ont été à marée descendante d'où une salinité relativement faible dans la majorité des échantillons et avec des coefficients de marée compris entre 78 (AD1) et 109 (AD3) (Annexes, Figure A2.1C).

2.1.3 Méthodes de prélèvement et traitement des échantillons

Le mode opératoire a été adapté à la nature du prélèvement et de l'analyse visée. Chacun des prélèvements nécessite des précautions spécifiques, un matériel et une manipulation adaptée. Il en est de même pour le transport et l'éventuel stockage des échantillons.

2.1.3.1 Prélèvement et traitement des échantillons sédimentaires

Les sédiments des berges sont prélevés à l'étale de basse mer afin de limiter l'influence des eaux marines. Les prélèvements des échantillons sédimentaires ont été effectués en triplica, chacun séparé au minimum d'un mètre des autres.

Pour la caractérisation des communautés microbiennes, 1 g de sédiments de surface (0 - 1 cm) a été collecté dans des tubes Eppendorf de 1,5 mL stériles. Les tubes ont été, dès leur collecte, stockés dans un cryovoyageur et transportés dans les 1 à 4 jours suivants jusqu'au laboratoire (IPREM, Pau) où ils ont été conservés à -80°C jusqu'à l'étape d'extraction d'ADN (acide désoxyribonucléique).

Pour l'analyse des micropolluants, 50 g de sédiments ont été collectés dans des sacs plastiques à fermeture à glissière neufs. Ils ont été transportés dans des glacières pour les maintenir au froid et à l'abri de la lumière puis conservés à -20°C. Dans un second temps, les sédiments ont été lyophilisés (VaCo2, Zirbus). La lyophilisation permet la dessiccation, soit l'élimination de l'eau des sédiments par sublimation. Après homogénéisation grossière, les débris (p. ex. brindilles, cailloux, feuilles) ont été soustraits, puis un aliquot (1 g) de chaque échantillon a été prélevé et envoyé au laboratoire UMR EPOC (équipe Sédimentologie) à Bordeaux en vue de l'analyse granulométrique. Le reste de l'échantillon a été complètement broyé à l'aide d'un broyeur planétaire à billes en agate et stocké -20°C dans un flaconnage en verre jusqu'à l'extraction et l'analyse des micropolluants.

2.1.3.2 Prélèvement et traitement des échantillons d'eau

2.1.3.2.1 Préparation du flaconnage

Pour l'intégralité des analyses prévues dans le cadre de ce projet, par site, c'est approximativement **15 L** d'eau qui furent prélevés à l'étale de basse mer. En fonction de l'accessibilité des sites, les prélèvements d'eau

ont été réalisés dans leurs contenants respectifs ou à l'aide d'une bouteille Niskin® de 10 L. Les prélèvements ont été réalisés en subsurface (0 - 1 m). Le type de contenant et la préparation de ces derniers sont adaptés à l'analyse réalisée, ces informations sont succinctement présentées au sein du tableau 2.2).

TABLEAU 2.2 – Flaconnage employé pour les prélèvements d'eau et de son conditionnement

Analyse	Volume prelevé	Contenant	Préparation des contenants
Matrice ciblée : EAU			
ETM et organométaux	1 L	Bouteille de 1 L en polypropylène	Deux bains d'acide nitrique suivi d'un bain d'acide chloridrique
Contaminants organiques	2,5 L	Bouteille de 2,5 L à 3 L en verre ambré	Deux rinçages à l'acétone suivi d'une pyrolyse
Matrice ciblée : MES			
ETM et organométaux	5 L	Jerrican en polyéthylène de 5 L	Un bain d'acide nitrique suivi d'un bain d'acide chloridrique
Matrice ciblée : Eau et MES			
Analyse microbiologique	(3x) 2 L	Flacon carré en polyéthylène de 2L	Stérilisation via un nettoyage au détergent suivi d'une autoclave

Plus précisément, le matériel destiné au prélèvement d'eau pour l'analyse des ETM et organométaux est en polypropylène. Pour le stockage, il peut être distinctement constitué de polyéthylène pour les ETM et de Téflon® pour les espèces du mercure. L'ensemble de ce flaconnage a été nettoyé, décontaminé et stocké selon les protocoles de nettoyage et de stockage ultra-propres, déjà décrits par MONPERRUS et al. (2005).

Ainsi, le flaconnage a été nettoyé à l'aide de détergent (RBSTM) et abondamment rincé. Il a été en suivant décontaminé via une succession de deux bains d'acide nitrique (HNO₃) 10 % (v:v) et d'un bain d'acide chlorhydrique (HCl) 10 % (v:v). Pour chaque bain, le matériel a subi une étape de sonication de 2h et entre chaque bain, le matériel a été rincé au moins 3 fois à l'eau déionisée. Après décontamination, il a été mis sous une hotte à flux laminaire pour sécher et a été finalement stocké dans des contenants en plastique (polyéthylène) jusqu'à utilisation sur site.

Pour les prélèvements de particules pour les analyses de ETM, les jerricans de 5L en polyéthylène sont eux aussi successivement nettoyés au RBSTM, rincés abondamment et décontaminés par une succession de deux bains d'HNO₃ et d'un bain d'HCl, chacun à 5% (v:v) et finalement rincés abondamment à l'eau déionisée.

Le flaconnage dédié aux prélèvements et à l'analyse des contaminants organiques est en verre. Au préalable, l'ensemble du flaconnage a été rincé à deux reprises à l'acétone (Grade technique, 99,5%) puis pyrolysé à 450°C. Les flacons ont été fermés avec du papier d'aluminium pyrolysé jusqu'à utilisation. Les analyses des contaminants organiques prennent place directement après le prélèvement, ces échantillons ne transiteront pas par une étape de stockage.

2.1.3.2.2 Prélèvement et traitement en vue de l'analyse des micropolluants

• ETM & organométaux

Par site, 1 L d'eau de subsurface est prélevé dans des bouteilles en polypropylène. L'échantillon est conservé dans des glacières à l'abri de la lumière et au froid jusqu'au laboratoire (IPREM, Anglet). La concentration en ETM et en organomercurels dans les particules a été mesurée d'après la différence des concentrations dans la fraction totale (non filtrée) et la fraction dissoute (filtrée) (BUZIER et al., 2006). Ainsi, l'échantillon est scindé en deux, une première partie est directement transférée dans un flacon en polyéthylène de 125 mL puis acidifiée à 1% d' HNO_3 (POINT et al., 2007) et un flacon en Téflon® de 250 mL puis acidifiée entre 0,5 - 1% à l'acide acétique (CH_3COOH) (en fonction de la charge en particule), pour respectivement l'analyse des ETM et celle des espèces du mercure. Ces échantillons correspondent à l'analyse de la fraction totale (Figure 2.5A).

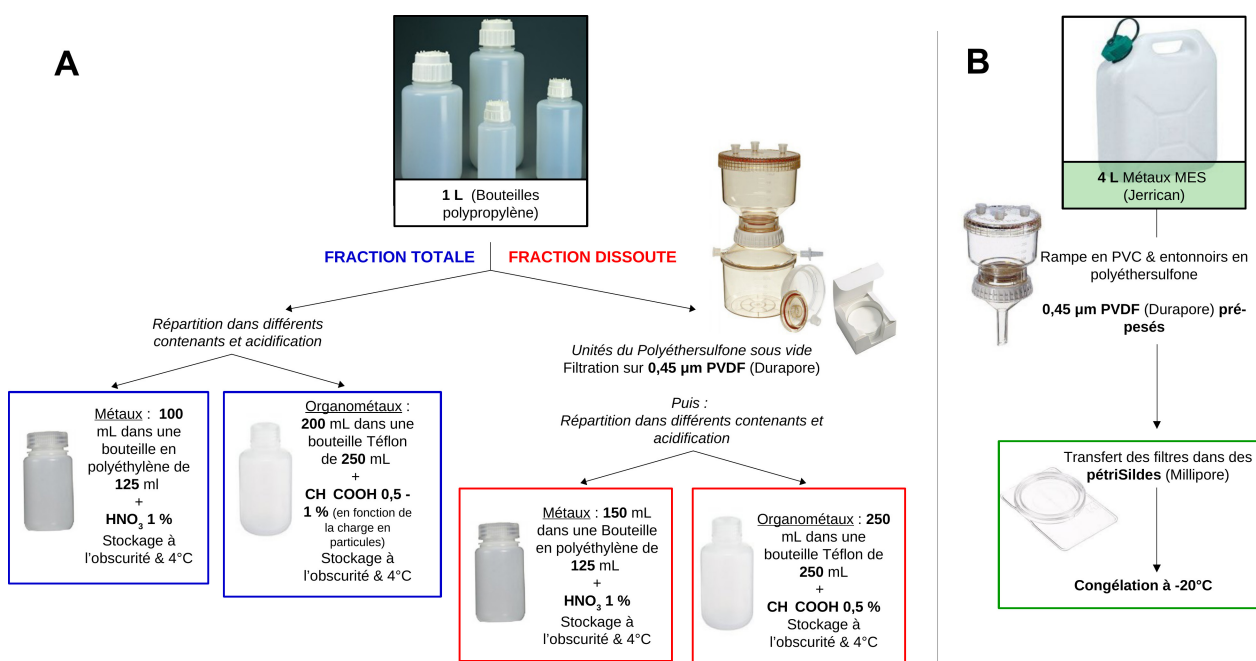


FIGURE 2.5 – Schéma du dispositif de filtration et de préparation des échantillons d'eaux (fraction totale et dissoute) (A) et la matière en suspension (MES) (B) pour l'analyse des ETM.

La seconde partie correspond à la fraction dissoute, l'échantillon est filtré sous vide sur des filtres PVDF 0,45 μm (Durapore). Le filtrat est distribué et acidifié de manière similaire à la fraction totale dans un flacon en polyéthylène de 125 mL acidifié à 1% HNO_3 et dans un flacon en Téflon® de 250 mL acidifié à 0,5% d' CH_3COOH . Les échantillons sont stockés à l'obscurité et à 4°C jusqu'à leur extraction et analyse (Figure 2.5A).

Pour le prélèvement de la fraction particulaire, 4 L d'eau de sub-surface sont prélevés par site puis transférés

au froid et à l'obscurité au laboratoire (IPREM, Anglet). Rapidement, de 200 à 1 700 mL d'échantillons ont été filtrés sur des rampes en PVC et des entonnoirs en polyéthersulfone et des filtres PVDF 0,45 µm (Durapore) auparavant décontaminés et pesés. Après la filtration, les filtres sont stockés dans des PetriSlides à l'obscurité et -20°C (Figure 2.5B). Avant l'analyse en ICP-MS, ils seront séchés sous une hotte à flux laminaire, pesés et de nouveau congelés afin d'être finalement lyophilisés (VaCo2, Zirbus).

Les PetriSlides (Millipore) ainsi que les entonnoirs de filtration et les unités de filtration en polyéthersulfone ont subi au préalable le même protocole de décontamination que le flaconnage de prélèvement soit deux bains d'HNO₃ 10% (v:v) suivit d'un bain d'HCl 10% (v:v), chaque bain se constituant d'une étape de sonication durant au minimum 2h. Les filtres ont eux aussi été décontaminés via deux bains d'acide, l'un d'HNO₃ et le second HCl, à 2% (v:v) aussi constitués chacun d'une étape de sonication de 2h.

• Contaminants organiques

Pour l'analyse des contaminants organiques, 2 L d'eau sont prélevés par site dans des bouteilles en verre ambré, les échantillons ont été en suivant acheminés au laboratoire (à l'obscurité et au froid). Le prélevèrent est scindé en deux, une première fraction a été filtrée (fraction dissoute) sur des filtres d'acétate de cellulose de 0,45 µm (Millipore) et la seconde a été conservé telle quelle (fraction totale) (Figure 2.6). La concentration en contaminants organiques dans les particules sera estimée à partir de la différence entre la fraction totale et la fraction dissoute (BUZIER et al., 2006).

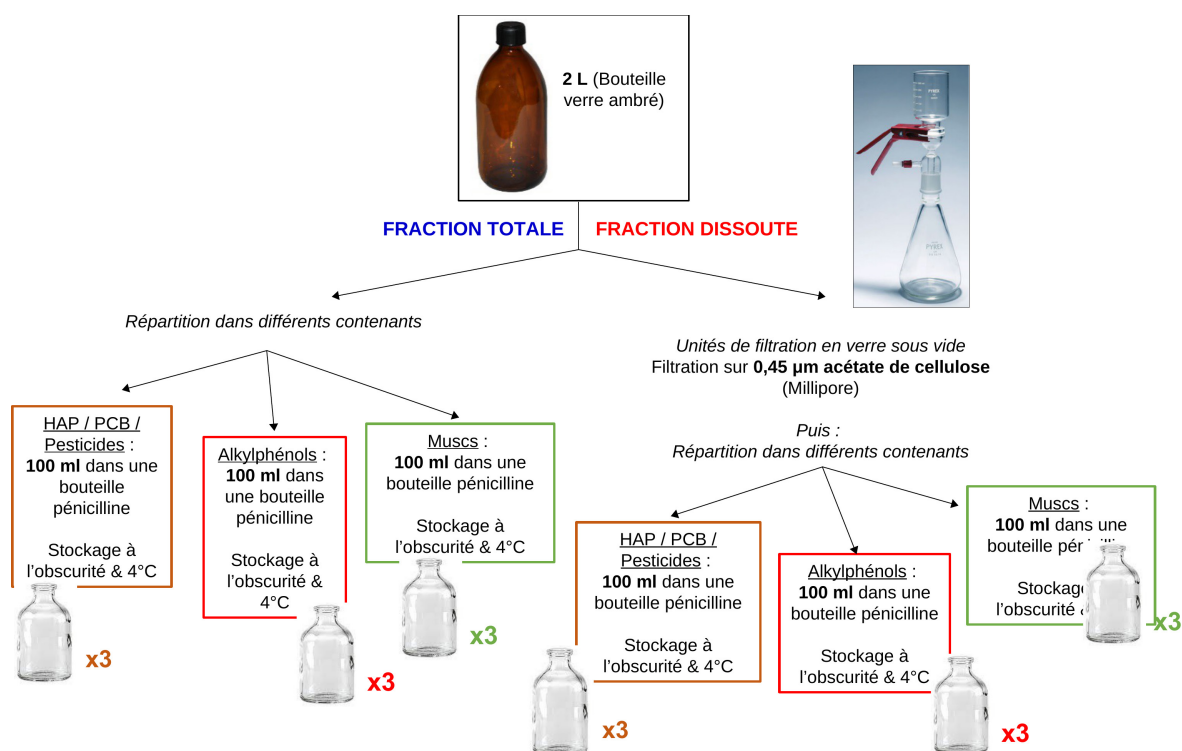


FIGURE 2.6 – Schéma du dispositif de filtration et de préparation des échantillons d'eaux (fraction totale et dissoute) pour l'analyse des contaminants organiques par site.

Chaque fraction (dissoute et totale) a été alors scindée en 3 pour réaliser les extractions et analyses distinctes des HAP, PCB et pesticides, des muscs synthétiques et filtres UV et des alkylphénols. Pour chacune de ces catégories, on réalise des triplicas d'extraction, 100 mL d'échantillons ont été transférés dans des flacons en verre contenant 10 g de NaCl (Figure 2.6) d'après BLANCO-ZUBIAGUIRRE et al. (2014). Cette préparation correspond concrètement à la phase d'extraction des contaminants organiques. En effet, l'étape d'extraction prend place en suivant, sans étape intermédiaire de stockage. Les contaminants organiques se dégradent rapidement, il est nécessaire de les extraire le plus rapidement possible de la fraction aqueuse et de poursuivre l'analyse en GC-MS dans les plus brefs délais. Les unités de filtration et le flaconnage ont été au préalable rincés à trois reprises à l'acétone (Grade technique, 99,5%) et pyrolysés (à 450°C).

- **Résidus pharmaceutiques**

Par site, 1,5L d'eau de subsurface est prélevés dans des bouteilles d'eau de source au préalable vidées. Les échantillons ont été filtrés sur des filtres de 0,45 µm en acétate de cellulose (Millipore), 200 mL en triplica par échantillons ont été stockés dans des bouteilles en plastique d'eau minérale et congelés (-20°C).

2.1.3.2.3 Prélèvement et traitement en vue de l'analyse des communautés microbiennes

Par site, 2 L d'eau ont été prélevés en subsurface et en triplica dans des bouteilles plastiques au préalable nettoyées et stérilisées par autoclave. Les échantillons ont été filtrés suivant un dispositif de filtration en série à l'aide d'une pompe péristaltique et constitué de 2 seuils de coupure : à **3 µm** (filtre membrane - MD de mix d'ester de cellulose et de 47 mm de diamètre, Millipore) et à **0,22 µm** (filtre SterivexTM GV, Millipore) de maillage (Figure 2.7). Les filtres disques ont été auparavant autoclavés et les SterivexTM étaient garantis stériles par le fournisseur.

Ce premier filtre en série (d'une porosité de 3 µm) correspond à la fraction de microorganismes associés aux particules ; quant au second (d'une porosité de 0,22 µm), il correspond à la fraction de microorganismes libres dans la colonne d'eau (cf. Chapitre 1.3).

Sur les conseils de PADILLA et al. (2015), approximativement **1,5 L** d'eau ont été filtrés, à l'exception de quelques sites pour lesquels la présence d'une proportion conséquente de matière en suspension (particulaire ou colloïdale) a entraîné rapidement un colmatage des filtres, à titre indicatif le volume d'échantillon filtré a varié entre 220 et 1 820 mL.

Une fois la filtration terminée, les SterivexTM ont été scellés avec du parafilm et les filtres membranes de 3 µm ont été pliés et stockés dans des tubes Eppendorf de 1,5 mL. Les filtres ont ensuite été stockés et transportés au sein de cryoconservateurs. Arrivés au laboratoire (IPREM, Pau), les filtres ont été stockés à -80°C dans l'attente de l'étape d'extraction d'ADN.

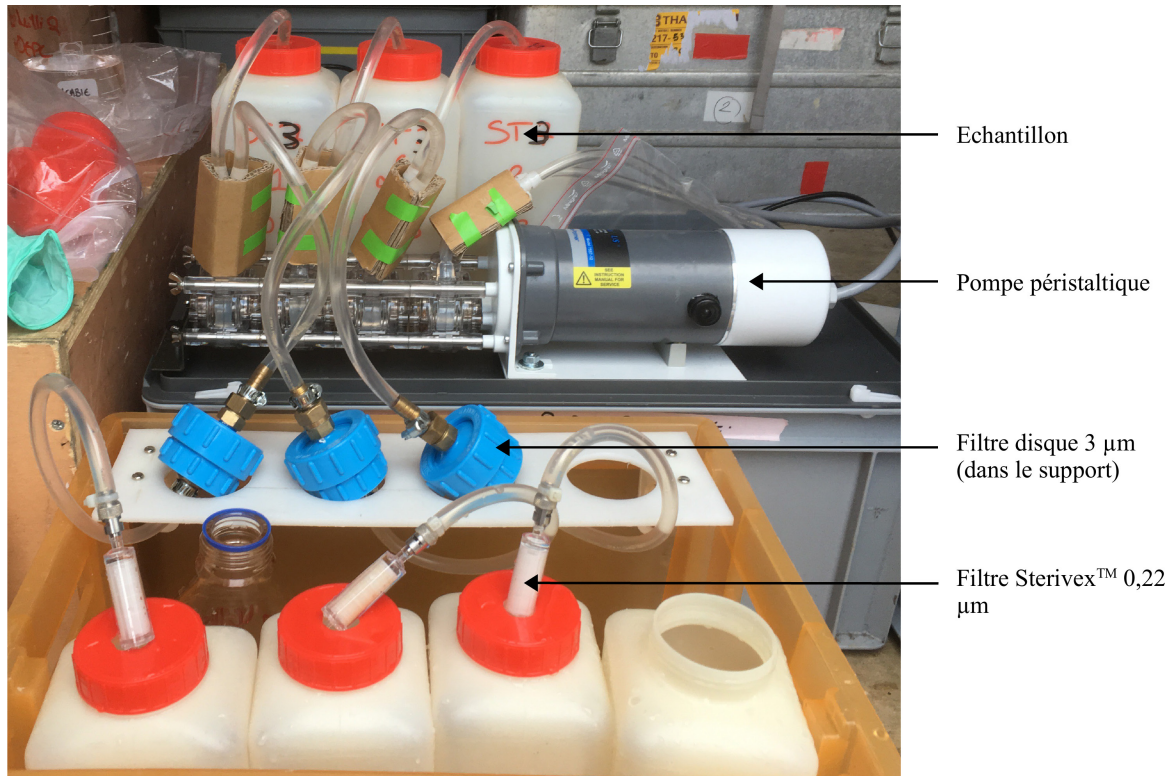


FIGURE 2.7 – Photographie légendée du dispositif de filtrations sur 3 et 0,22 µm des échantillons *in situ* les prélèvement microbiologiques des eaux.

2.2 Caractérisation des micropolluants dans l'estuaire de l'Adour

2.2.1 Analyses des ETM en ICP-MS

Le dosage des ETM pour l'ensemble des matrices fut réalisé par **spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif** (ICP-MS). Cette méthode consiste en la séparation, l'identification et la quantification des ETM en fonction de leur ratio masse sur charge. Le protocole de digestion (ou minéralisation) pour les sédiments, particules et pour la fraction totale (non filtrée) des eaux a été adaptée d'après LANCELEUR et al. (2011).

2.2.1.1 Dosage des ETM dans les sédiments et des particules

Les analyses des ETM dans les sédiments et les particules suivent un protocole identique. De 0,05 à 1 g de sédiments secs (lyophilisés et broyés) et les filtres lyophilisés sont mis en solution avec 3 mL d' HNO_3 (69-70%, *BAKER INSTRA-ANALYZED® for trace metal analysis*, Fisher Scientific) et 1 mL d'acide chlorhydrique (33-36%, *BAKER ULTREX®*, Fisher Scientific) dans des flacons de 15 mL de polypropylène. Cette solution est ensuite chauffée durant 4h à 85°C (DigiPREP, SCP Science). Après cette étape, 1 mL de peroxyde d'hydrogène (30-32% *Optima™ for ultra trace analysis*, Fisher Scientific) est ajouté au goutte-à-goutte. Cette solution est de nouveau chauffée pendant 2h à 85°C (DigiPREP, SCP Science). Le volume total est ensuite ajusté à 15 mL avec de l'eau Milli-Q (*Millipore*). Le minéralisat est ensuite centrifugé et le surnageant récupéré puis filtré sur des filtres seringues PTFE de 0,22 μm de porosité (Millipore).

Les échantillons sont de nouveau dilués 10 fois avec une solution de HNO_3 à 2% (v:v) et 50 μL d'étalon interne sont ajoutés. L'analyse de la teneur en ETM totaux dans les sédiments est faite sur un **ICP-MS Agilent 7500 series** (IPREM, Pau) et en employant simultanément les méthodes de calibration interne et externe. La calibration externe est réalisée via l'emploi d'une solution multiélémentaire avec reconstitution de la matrice acide (HNO_3 à 2%, v:v) dont la gamme s'étendait de 0 à 20 ppb, ainsi qu'une calibration interne avec le Bismuth (Bi) à 1 ppb (BULSKA & WAGNER, 2016). Les valeurs obtenues sont le résultat de la moyenne arithmétique de l'injection à 10 reprises de l'échantillon. Les mesures sont corrigées par la calibration interne (Bi) et par les blancs d'acides (HNO_3 2%, v:v) correspondant aux étapes d'extraction et d'injection. Les limites de détection (LD) étaient comprises, en fonction des ETM et des campagnes d'échantillonnages, entre 0,05 et 5 ppb. Le matériau certifié utilisé pour le contrôle de cette analyse est le sédiment **SRM 1944** (National Institute of Standards & Technology, USA).

Afin de se défaire d'éventuels effets de matrice, notamment des effets de l'influence de la granulométrie dans les sédiments, les concentrations en métaux seront à certaines reprises normalisées par la **concentration en thorium (Th)** (LANCELEUR et al., 2011). La normalisation correspond à la division des concentrations en

différents métaux par la concentration en Th. L'emploi du Th se justifie ici par son importante insolubilité et sa connexion avec la granulométrie dans les sédiments (LARROSE et al., 2010).

2.2.1.2 Dosage des ETM totaux dans les eaux

- **Extraction des ETM par digestion**

Pour rappel, les ETM ont été mesurés dans les particules simultanément à partir d'une filtration sur des filtres 0,45 μm (voir précédemment) mais aussi par d'après la différence des concentrations dans la fraction totale (non filtrée) et la fraction dissoute (filtrée) (BUZIER et al., 2006). Cette première étape de digestion ne concerne que les échantillons d'eau brute correspondant à la fraction totale. 10 mL d'échantillons sont placés dans des tubes DigiPREP de 50 mL (SCP Science) avec 100 μL d'une solution d'étalonnage interne contenant de l'Yttrium (Y), Scandium (Sc) et le Bismuth (Bi) (VANHAECKE et al., 1992) à 100 ppb, ainsi que 0,2 mL d' HNO_3 puis 0,1 mL d' HCl .

Les tubes sont placés dans une plaque chauffante DigiPREP (SCP Science) où ils seront chauffés à 90°C pendant 3h. Après refroidissement, les échantillons sont dilués par l'ajout 40 mL d'eau Milli-Q en pesée et filtrés sur des seringues de 0,45 μm PVDF (Durapore).

- **Préparation, instrumentation et injection en ICP-MS**

5 mL d'échantillons digérés ou correspondant à la fraction dissoute sont placés dans des tubes ICP, 100 μL de la solution d'étalonnage à 100 ppb sont ajoutés aux échantillons d'eau dissoute (n'ayant pas subi l'étape de digestion). En fonction de la concentration attendue en ETM ou de la salinité, certains échantillons pourront être dilués avec 2 à 4 mL d' HNO_3 2% (v:v).

Le dosage des ETM a été réalisé sur un **ICP-MS Agilent 7500 series** (IPREM, Pau). Deux types d'étalonnage ont été employés dans cette analyse : interne (avec l'Y, Sc et le Bi à 1 ppb) (VANHAECKE et al., 1992) et externe via une solution multiélémentaire avec reconstitution de la matrice acide (HNO_3 à 2%, v:v), la gamme de la calibration externe s'étendait de 0 à 20 ppb (BULSKA & WAGNER, 2016). Les mesures ont été corrigées par la calibration interne (Y, Bi ou Sc en fonction de l'élément analysé, VANHAECKE et al. (1992)), ainsi que par les blancs d'acides (HNO_3 2%, v:v) correspondant aux étapes d'extraction et d'injection, et des blancs de filtration (de l'eau Milli-Q ayant suivie les mêmes procédés de filtration, extraction et injection). De nouveau, un échantillon est injecté à dix reprises dans l'ICP-MS et sa valeur finale est moyennée. Les LD étaient comprises, en fonction des ETM et des campagnes d'échantillonnages, entre 0,005 et 12,5 ppb. Ces analyses ont été validées via à l'emploi d'eaux certifiées, la **TM RAIN-04** une eau de pluie (Environment Canada), la **SLEW-3** une eau estuarienne (National Research Council, Canada) et la **SLRS-6**, une eau de rivière (National Research Council, Canada).

2.2.2 Détermination du mercure

Deux méthodes ont été distinctement employées pour la caractérisation du mercure et/ou des organomercurels dans cette étude. Cette distinction est fonction de la nature des échantillons. Pour les eaux, quelle que soit la fraction, les organomercurels ont été mesurés par **chromatographie en phase gazeuse (GC)** et **spectrométrie de masse à plasma couplé par induction (ICP-MS)**, ainsi que la méthode de **dilution isotopique**, l'analyse a été réalisée conformément à MONPERRUS et al. (2005). Pour les sédiments, c'est le mercure total qui a été mesuré via un **analyseur de mercure (AMA-254, LECO)** (COSTLEY et al., 2000).

2.2.2.1 Détermination des organomercurels par GC-ICP-MS dans les eaux

Comme indiqué précédemment, la mesure des organomercurels repose sur le couplage d'une méthode de séparation (GC) et d'une méthode de détection (ICP-MS). La particularité de cette analyse repose sur l'emploi de la méthode de dilution isotopique qui permet d'augmenter la précision et la justesse de la mesure par rapport aux méthodes classiques de calibration (MONPERRUS et al., 2004). Cette méthode consiste à l'ajout d'une quantité connue d'un isotope de l'élément étudié dans l'échantillon. Les concentrations sont déduites des rapports isotopiques.

- **Préparation des échantillons**

Les échantillons ont été brièvement passés dans un bain à ultrasons (quelques minutes) pour s'assurer que les analytes ne restent pas fixés sur les parois des contenants de stockage. Après homogénéisation par agitation manuelle, 100 mL d'échantillons ont été transférés dans des flacons en verre préalablement nettoyés (voir détails plus bas). Ensuite, 5 mL d'un tampon d'acétate de sodium, solutions d'isotopes stables de ^{199}IHg et $^{201}\text{MMHg}$ (MONPERRUS et al., 2008). Le pH est ensuite ajusté à 4,9. Après quelques heures d'équilibration, 250 μL d'isooctane et 80 μL de solution tétraéthylborate (5%) sont ajoutés, ils permettent respectivement les étapes d'extraction et de dérivation. Les échantillons sont alors agités pendant 20 min à 40 rpm. La phase organique surnageante sera finalement récupérée et injectée (en triplica) via des microfioles GC.

Ici, comme pour la collecte des échantillons *in situ*, l'intégralité du matériel employé pour la préparation des échantillons était au préalable nettoyé selon les protocoles précédemment décrits par MONPERRUS et al. (2005). Le matériel a été au préalable nettoyé avec du détergent (RBSTM) et abondamment rincé. Puis, il a été décontaminé via deux bains d'acide nitrique (HNO_3) 10 % (v:v) et un bain d'acide chlorhydrique (HCl) 10 % (v:v). Pour chaque bain, le matériel a subi une étape de sonication de 2h et entre chaque bain, le matériel a été rincé au moins 3 fois à l'eau déionisée. En suivant, il était séché sous hotte à flux laminaire et finalement stocké sous deux sacs en polyéthylène jusqu'à emploi.

- **Instrumentation et injection : GC-ICP-MS**

Ces analyses ont été réalisées sur un chromatographe gazeux (Agilent Technologies) équipé d'une colonne Rxi®-5 ms (de 0,25 mm de diamètre) (Restek) couplé à un ICP-MS. Le gaz vecteur est l'hélium, son débit est de 5 mL.min⁻¹. Le four du GC est chauffé à 80°C pendant 1 min, puis augmente de 30°C.min⁻¹ jusqu'à la température de 180°C, puis augmente de nouveau de 50°C.min⁻¹, jusqu'au palier final de 280°C maintenu pendant 2 min. La température de l'injecteur est de 280°C. Les mesures sont corrigées par la valeur des blancs de procédure (correspondant à la préparation des échantillons et leur injection) et contrôlées par celles des blancs de filtration. La calibration ici est interne, elle correspond à l'emploi de la méthode dilution isotopique. Elle est contrôlée par l'emploi de standards naturels de l'élément ciblé (ici le mercure). La LD varie en fonction des campagnes d'échantillonnage, respectivement entre 0,067 et 0,212 ng.L⁻¹ et 0,002 et 0,009 ng.L⁻¹ pour le ¹⁹⁹IHg et le ²⁰¹MMHg, l'intégralité des valeurs mesurées sont supérieures à la LD.

2.2.2.2 Détermination du mercure total par dans les sédiments

Pour les sédiments, la concentration en mercure total dans les sédiments a été mesurée via un **analyseur de mercure total**, l'**AMA-254** (LECO). Cette analyse ne nécessite pas de pré-traitement des échantillons (digestion, extraction, etc.) au préalable. La concentration en mercure total y est déterminée par **spectrométrie d'absorption atomique** (AAS) (COSTLEY et al., 2000).

De 15 à 35 mg de sédiments lyophilisés et broyés sont pesés dans une nacelle de nickel. Cette nacelle est introduite dans l'analyseur où les échantillons y sont décomposés par chauffe (850°C) et en présence d'oxygène. Après décomposition, le mercure sous forme élémentaire (Hg⁰) est entraîné par un flux d'oxygène jusqu'à un piège d'or où il est amalgamé. Le mercure est ensuite désorbé par une chauffe rapide (750-850°C) et entraîné par un flux d'oxygène vers des cellules de détection où le mercure est mesuré par spectrométrie d'absorption atomique à 254 nm.

2.2.3 Analyses des contaminants organiques

- **Extraction par adsorption sur phase solide pour les matrices eaux**

L'étape d'extraction est réalisée distinctement pour les HAP, pesticides et PCB, puis pour les muscs synthétiques et les filtres UV, enfin dernièrement pour les alkyphénols et selon la méthode décrite par BLANCO-ZUBIAGUIRRE et al. (2014) et modifiée par CAVALHEIRO et al. (2015) pour les alkyphénols.

Pour chacune des catégories d'analyses, 100 mL d'échantillons (fraction totale ou dissoute) sont placés dans des flacons en verre au préalable nettoyés comme indiqué précédemment, une solution de standards internes est ajoutée aux échantillons. Pour les 3 catégories d'analyses, la composition, concentration et quantité de standards internes varient, ainsi pour l'analyse des HAP, PCB et pesticides, 10 µL d'une solution à 10 ppm de naphthalène d8, acénaphthène d10, pérylène d12 et atrazine d5 (Sigma Alrich) à 10 ppm, de 10 µL d'une solution de musc xylène d15 (LGC Standards) à 10 ppm (CAVALHEIRO et al., 2013) pour les muscs

synthétiques et 10 µL d'une solution de benzophenone d10 à 10 ppm filtres UV et pour les alkylphénols, de 50 µL de nonylphénol-d4 (Sigma Alrich) à 1 ppm (CAVALHEIRO et al., 2014).

Ensuite, 5 fragments de microtubes de polyethersulfones (PES) (Membrana GmbH, Germany) long d'approximativement 1,5 cm sont introduits dans les d'échantillons. Ces microtubes représentent la phase stationnaire de l'extraction, ils vont permettre la pré-concentration et l'extraction des contaminants organiques par adsorption à leur surface. Afin de favoriser l'efficacité et l'homogénéité de cette adsorption, le mélange est mis sous agitation pendant 15h à 990 rpm. Chacune des trois extractions est réalisée en triplica.

Les PES sont finalement récupérés, rincés à l'eau Milli-Q, séchés et transférés dans des Eppendorf 1,5 mL avec 300 µL d'acétate d'éthyle. Après 8 min d'ultrasons, la phase liquide est transférée dans un flacon GC-MS.

Ce protocole correspond à l'extraction pour les HAP, pesticides et PCB et pour les muscs synthétiques et les filtres UV comme décrit par BLANCO-ZUBIAGUIRRE et al. (2014). Pour les alkylphénols, il a été adapté par CAVALHEIRO et al. (2017) en y incluant notamment une étape de dérivation. Ici, les PES sont découpés en deux et transférés dans 125 µL d'acétate d'éthyle. Après 8 min d'ultrasons, 50 µL de BSTFA/TMC (99:1) sont ajoutés, le tout est placé à l'étuve à 60°C pour 45 min (SHAREEF et al., 2006). Finalement, la phase liquide est transférée dans un flacon GC-MS et stockée à -20°C avant l'analyse en GC-MS, les paramètres d'injections et de contrôle seront indiqués plus bas.

- **Extraction des contaminants organiques par la méthode QuEChERS pour les matrices sédimentaires**

Pour les sédiments, l'étape d'extraction a été adaptée d'après BEN SALEM et al. (2016) pour les HAP, PCB et pesticides et NECIBI et al. (2016) pour les muscs synthétiques. Brièvement, un aliquot de 2 g d'échantillons ont été pesés dans un flacon en polypropylène de 50 mL et sont ajoutés 4 mL d'eau Milli-Q (Millipore), 20 µL de standards internes de naphthalène d8, acénaphthène d10, pérylène d12, atrazine d5, carbamazépine d10 (Sigma Alrich) et musc xylène d15 (LGC Standards) à 100 ng.g⁻¹ chacun. Le tout est homogénéisé et 10 mL d'une solution d'acétate d'éthyle:toluène (75:25, v:v) sont introduits. Après 1 min de vortex, un mélange de sels de tampon citrate est ajouté. La solution de nouveau homogénéisée à la main, vortexée 1 min puis centrifugée à 4000 rpm pendant 5 min. Le surnageant est collecté dans un tube en polypropylène de 15 mL contenant un mélange de 1 200 mg de MgSO₄, 400 mg de PSA et 400 mg de C18EC (Agilent Technologies). Après avoir été vortex 1 min et centrifugé (4000 rpm pendant 5 min) de nouveau, le surnageant est transféré dans un tube en verre et évaporé sous air comprimé (TurboVap LV, Biotage) jusqu'à qu'il ne reste approximativement que 1 mL. Après une homogénéisation, le contenu est transféré dans un flacon GC-MS et stocké à -20°C avant l'analyse en GC-MS, les paramètres d'injections et de contrôle seront indiqués plus bas.

- **Injection et instrumentation : LVI-PTV-GC-MS**

L'analyse des contaminants organiques (dans les sédiments et les matrices eaux) et substances pharmaceu-

tiques dans les sédiments a été réalisée sur un **chromatographe gazeux (GC) 7890A** (Agilent Technologies) équipé d'un injecteur à large volume (LVI) et vaporisateur à température programmable (PTV) et d'une colonne capillaire **HP-5MS UI** (30 m de long, 0,25 mm de diamètre et 0,25 μ m d'épaisseur du film), couplé à un **spectromètre de masse 5975C (MS) triple quadrupôle** avec une source d'ionisation par impact électronique (EI) (Agilent Technologies). La chromatographie est réalisée avec l'hélium (He) (Linde) comme gaz vecteur.

En fonction des contaminants organiques ou de la matrice ciblée par l'analyse, les conditions d'injections et de séparation des échantillons peuvent varier. Elles ont été résumées dans le tableau 2.3 pour les conditions d'injections et dans le tableau 2.4 pour la programmation du four du GC.

TABLEAU 2.3 – Conditions d'injections des échantillons pour les analyses des contaminants organiques en GC-MS.

	HAP, PCB & pesticides	Muscs synthétiques & filtres UV	Alkylphénols
Matrice	Sédiments & Eaux	Sédiments & Eaux	Eaux
Volume d'injection (μ L)	20	50	20
Débit d'injection (μ L.min ⁻¹)	8	360	360
Température de cryofocalisation (°C)	50	50	40
Temps de cryofocalisation (min)	2,58	4	3
Débit de fuite (mL.min ⁻¹)	100	75	75
Pression (psi)	5	4,35	4,35
Mode splitless : Temps (min)	2,5	1,5	1,5
Mode splitless : Température (°C)	Augmentation de 10°C.s ⁻¹ jusqu'à 325°C (maintenue pendant 25 min)	Sédiments : Augmentation de 12°C.s ⁻¹ jusqu'à 300°C (maintenue 29 min) ; Eau : Augmentation de 12°C.s ⁻¹ jusqu'à 300° (maintenue 5 min) puis augmentation jusqu'à 330°C (maintenue 5 min)	12°C.s ⁻¹ jusqu'à 300°C maintenu pendant 10 min
Référence	BEN SALEM et al., 2016	NECIBI et al., 2016 CAVALHEIRO et al., 2017 modifié d'après CAVALHEIRO et al., 2013	CAVALHEIRO et al., 2017 modifié d'après CAVALHEIRO et al., 2014

Pour l'eau et les sédiments, deux méthodes d'étalonnage ont été employées : un étalonnage interne et externe. Dans les sédiments, la gamme s'étendait de 0 à 1000 ng.g⁻¹ pour l'ensemble des catégories de contaminants organiques. Pour les eaux, les gammes d'étalonnage externe s'étendaient de 0 à 500 ng.L⁻¹ pour les HAP, PCB et pesticides et de 0 à 2000 ng.L⁻¹ pour les alkylphénols, les muscs synthétiques et les filtres UV.

TABLEAU 2.4 – Programmation du four du GC en fonction du type d'analyse et des matrices ciblées.

	HAP, PCB & pesticides	Muscs synthétiques & filtres UV	Alkylphénols
Matrice	Sédiments & Eaux	Sédiments & Eaux	Eaux
Débit du gaz vecteur (mL.min ⁻¹)	1,5	1,3	1,3
Programme de chauffe du GC	50°C pendant 3 min, puis augmentation de 25°C.min ⁻¹ jusqu'à 195°C (maintenu pendant 1,5 min), augmentation de 8°C.min ⁻¹ jusqu'à 265°C (maintenu pendant 1 min) et augmentation de 20°C.min ⁻¹ jusqu'à un palier final à 310°C maintenu 5 min	60°C pendant 4 min puis augmentation de 30°C.min ⁻¹ jusqu'à 190°C, ensuite, augmentation de 5°C.min ⁻¹ jusqu'à un palier final à 290°C maintenu 5 min	60°C pendant 3 min, augmentation de 10°C.min ⁻¹ jusqu'à 170°C, ensuite, augmentation de 15°C.min ⁻¹ jusqu'à un palier final à 300°C maintenu 5 min
Référence	BEN SALEM et al., 2016	NECIBI et al., 2016 CAVALHEIRO et al., 2017 modifié d'après CAVALHEIRO et al., 2013	CAVALHEIRO et al., 2017 modifié d'après CAVALHEIRO et al., 2014

Les valeurs obtenues sont le résultat de la moyenne arithmétique de l'injection de 3 réplicats de prélèvement pour les sédiments et de 3 réplicats d'extraction pour les eaux. Les analyses ont été contrôlées par une calibration procédurale pour chaque catégorie (HAP, PCB et pesticides; muscs synthétiques et filtres UV; alkylphénols). Les phases d'injections sont contrôlées par l'emploi de blancs procéduraux d'acides (HNO₃ 2%, v:v). Les mesures sont corrigées par la valeur des blancs d'injection (pour les sédiments et l'eau) et de filtration (pour les matrices eau). Les LD obtenues dans les sédiments étaient comprises entre 0,5 et 20 ng.g⁻¹ pour les HAP, entre 0,1 et 1,5 ng.g⁻¹ pour les PCB, entre 0,2 et 90 ng.g⁻¹ pour les pesticides, entre 0,01 et 2 ng.g⁻¹ pour les muscs synthétiques et entre 0,1 et 8 ng.g⁻¹ pour les filtres UV. Les LD obtenues dans les eaux étaient comprises entre 5 et 50 ng.L⁻¹ pour les HAP, entre 5 et 20 ng.L⁻¹ pour les PCB, entre 5 et 50 ng.L⁻¹ pour les pesticides, entre 1 et 5 ng.L⁻¹ pour les muscs synthétiques, entre 5 et 20 ng.L⁻¹ pour les filtres UV et entre 10 et 50 ng.L⁻¹ pour les alkylphénols.

2.2.4 Analyses des résidus pharmaceutiques en LC-MS/MS

Le dosage des résidus pharmaceutiques fut réalisé par chromatographie liquide (LC) couplée à un **spectromètre de masse en tandem** (MS/MS). Ces analyses ont été réalisées sur des échantillons d'eau correspondant à la phase dissoute ainsi que des échantillons sédimentaires. Au total, ce sont 46 substances pharmaceutiques qui furent recherchées dans ces deux matrices (Tableau 1.11).

- **Extraction et pré-concentration sur phase solide des échantillons sédimentaires**

L'extraction des substances pharmaceutiques dans les sédiments a été réalisée en deux étapes, (a) l'extraction des substances de la matrice sédimentaire par sonification d'après un protocole adapté de SIEDLEWICZ et al. (2016) et (b) extraction et pré-concentration sur phase solide (SPE) d'après, ici, un protocole adapté de GROS et al. (2017). Pour cette première étape (a), à 200 mg de sédiments lyophilisés, broyés et homogénéisés ont été ajoutés 40 μL d'un mélange de standards interne (Sigma Alrich) composé de carbamazépine d10, d'aténolol d7, de ciprofloxacine d8, de norfloxacine d5, d'ofloxacine d3, de diazepam d5, de nordazépan d5 et d'ibuprofène d3 à 50 mg.L^{-1} dans du méthanol (CH_3OH). En suivant, 1 mL de CH_3OH , 1 mL de chlorure d'ammonium (NH_4Cl) supersaturé et 200 μL de Na_2EDTA à 0,1 mol.L^{-1} (Sigma Alrich) ont été ajoutés aux sédiments. La solution a été en suivant vortexée pendant 1 min, puis elle a été soumise une étape de sonification pendant 8 min et finalement centrifugée à 4500 rpm pendant 5 min. Le surnageant est transféré dans un nouveau tube de 50 mL (polypropylène) et le niveau est ajusté à 50 mL avec de l'eau Milli-Q.

L'extraction sur phase solide des contaminants organiques a été réalisée sur des **cartouches Oasis HLB (60 mg, 3 cc)** (Waters) conditionnées avec 2 fois 3 mL de CH_3OH à un débit approximatif de 1 mL.min^{-1} . L'intégralité des 50 mL d'échantillons ont en suivant été chargés sur les cartouches (à 10 mL.min^{-1}). Après le passage des échantillons, la cartouche a été rincée avec 5 mL d'eau Milli-Q, puis séchée à température ambiante pour 15 à 20 min. L'élution finale a été réalisée dans 5 mL de CH_3OH (à 1 mL.min^{-1}). L'éluant a été ensuite évaporé sous flux d'air comprimé (TurboVap LV, Biotage) et reconstitué dans 1 mL d'une solution de CH_3OH et d'eau Milli-Q (5:95, v:v). La solution a été ensuite vortexée pendant 20 s, transférée dans un flacon LC/MS et conservée jusqu'à l'injection en LC-MS/MS à -20°C .

- **Extraction et pré-concentration sur phase solide pour les échantillons d'eaux**

Pour la fraction dissoute des eaux de l'estuaire, les échantillons ont été directement soumis à l'extraction sur SPE (b), de nouveau, d'après un protocole adapté de GROS et al. (2017). De nouveau, en amont de l'extraction et à 200 mL d'échantillons, ont été ajoutés 200 μL de Na_2EDTA à 0,1 mol.L^{-1} (Sigma Alrich), 10 μL d'un standard interne de PFA MPFAC-C-IS à 2 mg.L^{-1} et 10 μL à 2 mg.L^{-1} d'un mélange d'étalons internes (Sigma Alrich) de substances pharmaceutiques composé de carbamazépine d10, d'aténolol d7, de ciprofloxacine d8, de norfloxacine d5, d'ofloxacine d3, de diazepam d5, de nordazépan d5 et d'ibuprofène d3 à 50 mg.L^{-1} dans du CH_3OH . L'étape d'extraction sur SPE réalisées pour les échantillons d'eau est très similaire à celle décrite précédemment pour les échantillons.

Brièvement, l'extraction a été réalisée de nouveau sur des **cartouches Oasis HLB (60 mg, 3 cc)** (Waters) conditionnées ici avec 5 mL de CH_3OH puis 5 mL d'eau Milli-Q à un débit approximatif de 1 mL.min^{-1} . Après passage des échantillons, la cartouche est rincée avec 5 mL d'eau Milli-Q et séchée pendant 15 à 20 min à température ambiante.

L'élution finale a eu lieu dans 8 mL de CH_3OH . L'éluant a été en suivant évaporé à sec sous un flux d'air comprimé (TurboVap LV, Biotage) et reconstitué dans 1 mL d'une solution de CH_3OH :eau Milli-Q (25:75, v:v). Il est finalement scindé en 2 échantillons de 500 μL et stocké dans des flacons GC à -20°C .

- **Injection et instrumentation**

Pour l'analyse des résidus pharmaceutiques dans les eaux a été réalisée en **LC-MS/MS**, d'après les travaux de thèse de CAPDEVILLE (2011). Ainsi, la première étape de séparation a été réalisée par chromatographie liquide (LC) à l'aide du système **Acquity UPLC®** (Ultra Performance Liquid Chromatography) (Waters) équipée d'une colonne **C18 Acquity UPLC HSS T3** (1,8 µm de taille des particules et 50 mm x 2,1 mm) (Waters) précédé d'une colonne de garde (1,8 µm de taille des particules et 50 mm x 2,1 mm). Le débit lors de la chromatographie a été fixé à 0,4 mL par min, la température de la colonne maintenue à 40°C et le volume d'échantillon injecté était de 5 µL.

Trois injections distinctes ont été réalisées, la première en mode d'ionisation positive, une seconde en mode négatif ciblant la majorité des composés et une troisième en mode négative de nouveau ciblant uniquement les hormones (l'estrone, l'oestradiol et l'éthinylestradiol). Pour l'analyse en mode positif, la phase mobile était constituée de deux éluants, l'eau Milli-Q avec 0,1% d'acide formique (A) et l'acétonitrile (B). En mode négatif, la majorité des substances pharmaceutiques ont été séparées via l'emploi d'une phase mobile constituée de nouveau l'eau Milli-Q avec 0,01% d'acide formique (A) et l'acétonitrile (B). La troisième injection ciblant les hormones, a été réalisée en mode négatif uniquement, pour la quantification des hormones, la phase mobile était constituée d'eau Milli-Q (A) et d'acétonitrile (B).

Pour chacune de ces injections, l'étape de chromatographie est de 10 min, pendant cette étape, la portion relative de chaque éluant varie. Ainsi, initialement, la phase mobile est constituée de 2% de l'éluant B et est maintenue à cette composition pendant 2 min, puis la portion de l'éluant B dans le mélange augmente linéairement jusqu'à 60% à 4 min et ensuite 100% à 6 min. Cette composition est maintenue pendant 1 min et avant de retrouver la composition initiale (2% de l'éluant B) pour les 3 dernières minutes.

La LC est couplée à un **spectromètre de masse triple quadrupôle Xevo TQ** en tandem (MS/MS) équipé d'une source d'ionisation par électrospray (electrospray ionisation, EI) (Waters).

Pour l'eau et les sédiments, deux méthodes d'étalonnage ont été employées : un étalonnage interne et externe. Pour les sédiments, deux gammes procédurales externes ont été réalisées à partir de deux échantillons présentant des granulométries différentes (l'un sableux, l'autre limoneux). Brièvement, 200g de ces sédiments auxquels est ajoutée une concentration croissante, entre de 0 à 500 ng.g⁻¹, en résidus pharmaceutiques ont subi les mêmes étapes d'extractions et de pré-concentration que les échantillons. Pour les eaux, la gamme d'étalonnage était unique, s'étendait de 0 à 2500 ng.L⁻¹ et a été réalisée à partir d'H₂O ultrapure.

Pour l'ensemble des échantillons, les phases d'injections sont contrôlées par l'emploi de blancs procéduraux et des blancs de solvant (MeOH:H₂O, 5:95, v:v). Pour les phases aqueuses, les mesures ont été corrigées par les blancs de filtrations, soit 500 mL d'eau MilliQ subissant les mêmes conditions de filtrations et conditionnement que les échantillons.

2.3 Caractérisation de la dynamique de matière organique

Dans le cadre du projet MICROPOLIT, toutes les matrices environnementales ont été décrites du point de vue biogéochimique par Jonathan Deborde. Les analyses réalisées concernant cette thèse ont été détaillées dans le tableau 2.5.

TABLEAU 2.5 – Paramètres mesurés et méthodes employées pour la caractérisation de la matière organique.

Paramètre mesuré	Méthode analytique	Instrumentation
Fraction dissoute (< 0,45 µm)		
Phosphate (PO_4^{3-})	Technicon spectrophotométrie (d'après Murphy & Riley, 1962 ; Benschneider & Robinson, 1952 ; Strickland et al., 1972)	
Ammonium (NH_4^+)	Colorimétrie spectrophotométrie (Koroleff, 1969)	UV-1800 Shimadzu
Nitrite (NO_2^-)	Technicon spectrophotométrie (d'après Murphy & Riley, 1962 ; Benschneider & Robinson, 1952 ; Strickland et al., 1972)	
Nitrate (NO_3^-)	Colorimétrie spectrophotométrie (Mullin & Riley, 1955 ; Strickland & Parsons, 1972)	
Silice ($\text{Si}(\text{OH})_4$)	Néphélométrie spectrophotométrie (Rodier, 1976)	
Sulfates (SO_4^{2-})	Colorimétrie spectrophotométrie (Fonselius, 1983 modifié d'après Cline, 1969)	
Sulfures libres (H_2S , HS^- , S^{2-})	Combustion catalytique (par soustraction du IC au TC)	TOC-L/TNM-L Shimadzu
DOC	Combustion catalytique & détection par chimiluminescence	
TN	Colorimétrie spectrophotométrie (Murphy & Riley, 1962) en FIA (Benschneider & Robinson, 1952 ; Strickland et al., 1972)	UV-1800 Shimadzu
DON	Spectroscopie d'absorption UV-visible	
DOP	Spectrofluorimétrie (EEM : Matrice d'excitation-émission de fluorescence)	RF-6000 Shimadzu

TABLEAU 2.5 – Paramètres mesurés et méthodes employées pour la caractérisation de la matière organique. (suite)

Paramètre mesuré	Méthode analytique	Instrumentation
Fraction particulaire (> 0,45 µm) et sédiments		
Teneur en eau	Pesée humide et sèche (après 24h à 60°C)	NA
Chlorophylle a et phéopigments	Spectrophotométrie (d'après Lorenzen, 1967 ; Aminot & Kérouel, 2004)	
POP	Colorimétrie et spectrophométrie (d'après la méthode de Murphy & Riley, 1962) en FIA	UV-1800 Shimadzu
PON	Colorimétrie et spectrophométrie (d'après Benschneider & Robinson, 1952 ; Strickland et al., 1972) en FIA	
POC	Combustion catalytique (par soustraction du IC au TC)	TOC-L/TNM-L & SSM5000-A
TC	Combustion catalytique	Shimadzu
Isotope du carbone et azote (δ_{13C} et δ_{15N})	IRMS (Spectrométrie de masse à rapport isotopique)	ThermoFisher Scientific Flash
C/N		2000 & Isoprime GV Instruments

NA : Not Available (Non disponible)

2.4 Caractérisation des communautés microbiennes par des méthodes de biologie moléculaire

2.4.1 Préparation des échantillons

En amont de l'extraction d'ADN, les filtres (de porosité de 3 μm et de 0,22 μm) furent découpés à l'aide de scalpel stérile et broyés à l'azote liquide à l'aide de mortiers et pillons en agate auparavant nettoyés et autoclavés (Figure 2.8). Les broyats furent stockés temporairement à -20 °C dans l'attente de l'extraction.

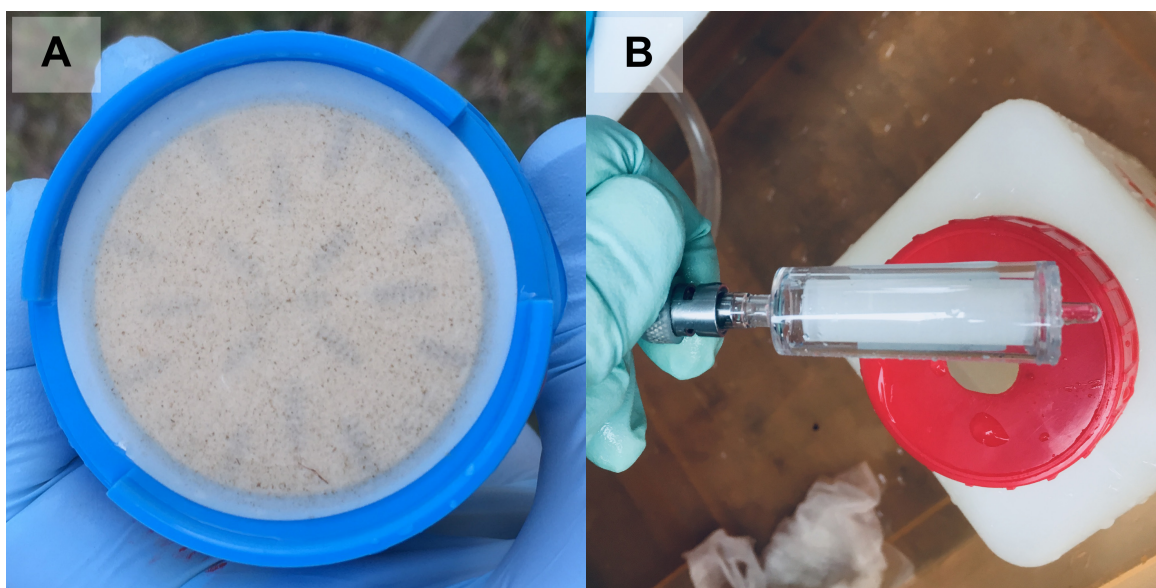


FIGURE 2.8 – Illustration des filtres de 3 μm de porosité (A) et des SterivexTM (B).

2.4.1.1 Extraction de l'ADN génomique total

Dans un but d'homogénéité, l'intégralité des échantillons de sédiment et des filtres ont subi le même protocole d'extraction. Les extractions ont été réalisées avec le kit d'extraction DNeasy PowerSoil Kit (Qiagen), selon le protocole proposé dans le manuel d'instruction du fabricant. Schématiquement, ce protocole consiste en une lyse mécanique (Figure 2.9) et chimique, suivis d'une succession d'étapes de filtration et purification permettant *in fine* de collecter l'ADN extrait. Au final, l'ADN extrait est récupéré dans 100 μL de tampon d'élution. Les ADN ainsi extraits sont ensuite conservés à -20°C.

2.4.1.2 Dosage d'ADN

Les concentrations en ADN pour tous les échantillons ont été mesurées par fluorimétrie avec un appareil Qubit 1.0. En fonction de la concentration en ADN extrait, deux kits de quantification furent employés :

Qubit dsDNA HS Assay kit ou Qubit dsDNA BR Assay kit (Thermo Fisher Scientific). Ces deux kits ne se distinguent que par les gammes de concentrations ciblées, allant de 10 pg.µL⁻¹ à 100 ng.µL⁻¹ pour le HS et de 100 pg.µL⁻¹ à 1 000 ng.µL⁻¹ pour le BR.



FIGURE 2.9 – Illustration de l'étape de lyse mécanique par vibrobroyage.

2.4.1.3 Normalisation des concentrations en ADN

Au-delà du contrôle de la concentration en ADN extraits, les mesures réalisées avec le Qubit permirent de normaliser la concentration en ADN entre les échantillons. Les échantillons de sédiments (**SED**) et ceux correspondant aux microorganismes associés aux particules (**PA**) ont été normalisés, c'est-à-dire dilués manuellement à l'aide d'eau stérile (Fisher Bioreagents), afin de correspondre à la plus faible concentration, soit 10 ng d'ADN par µL. Les échantillons correspondant aux microorganismes libres dans la colonne d'eau (**FL**), moins concentrés en ADN ont été normalisés à 2 ng.µL⁻¹.

2.4.2 Analyse de gène codant de l'ARNr 16S

L'analyse de la séquence de l'ADN 16S est l'un des outils le plus utilisés pour la caractérisation phylogénétique des communautés microbiennes. Ce gène présent sous la forme d'une ou plusieurs copies chez l'ensemble des procaryotes (bactéries et archées) code pour l'ARNr 16S constituant de la petite sous-unité ribosomale (KLAPPENBACH et al., 2000).

Les ribosomes sont des organites cellulaires essentiels à la traduction d'ARNm en protéines. Cette fonction hautement essentielle au vivant explique le haut degré de conservation des séquences impliquées dans la structure des ribosomes. Long d'approximativement **1 500 nucléotides**, ce gène est constitué d'une alternance de **régions conservées et hypervariables** (labellisées de V1 à V9) (Figure 2.10).

Afin de distinguer deux espèces microbiennes, il est nécessaire d'identifier des différences entre leur séquence. Les régions hypervariables sont alors utilisées comme « horloge moléculaire », les mutations y apparaissant sont utilisées pour mesurer la distance phylogénétique entre espèces.

Les régions conservées servent quant à elles de zone de complémentarité pour les amorces « universelles », elles vont permettre l'hybridation et ainsi l'amplification d'une région du gène. Ainsi, les amorces idéales pour un séquençage devront être positionnées au niveau d'une région conservée et permettre l'amplification d'une région hypervariable. Au delà du contrôle de la concentration en ADN extraits, les mesures réalisées avec le Qubit permettent de normaliser la concentration en ADN entre les échantillons. Les échantillons de sédiments (**SED**) et ceux correspondant aux microorganismes associés aux particules (**PA**) ont été normalisés à 10 ng d'ADN par μL . Pour les échantillons correspondant aux microorganismes libres dans la colonne d'eau (**FL**), qui étaient moins concentrés en ADN ont été eux normalisés à 2 ng.L^{-1} .

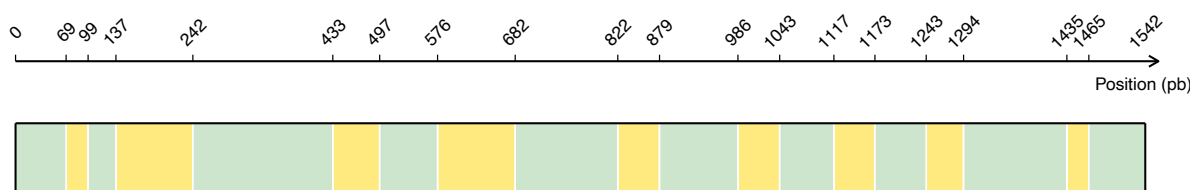


FIGURE 2.10 – Représentation schématique des alternances de séquences conservées et hypervariables dans les gènes codant pour l'ARNr 16S. Les régions sont positionnées d'après leur emplacement le long de l'ADN 16S pour *Escherichia coli* d'après BROSIUS et al., 1978.

2.4.2.1 Sélection des amorces

Actuellement, il existe une multitude d'amorces « universelles » ciblant différentes régions hypervariables du gène de l'ARNr 16S. Ces amorces doivent simultanément recouvrir des régions conservées pour pouvoir se fixer à l'ADN et des régions hypervariables afin de pouvoir identifier les variations entre différentes espèces. Il est important de noter qu'un couple d'amorce n'est pas choisi au hasard. La région hypervariable ciblée (V1, V2, V3, etc.), le couplage entre les amorces sens (*forward*) et anti-sens (*reverse*) ou la composition des amorces (pourcentage de G/C) sont parmi les critères les plus importants à prendre en compte dans le choix d'un couple amorces.

Un autre critère important est la représentativité. Bien qu'idéalement, les amorces « universelles » soient conçues pour séquencer indissociablement chaque bactérie ou archées, concrètement, chaque amorce n'est jamais complètement représentative de l'ensemble des procaryotes. Ces amorces ont été dessinées d'après les connaissances disponibles, généralement sur des modèles bactériens cultivés et bien référencés (comme *Escherichia coli*). Les amorces ainsi conçues seront plus représentatives pour les organismes proches du modèle en question, et inversement s'avéreront clairement moins sensibles pour les organismes plus éloignés

génétiq̃uement. Ceci est particulĩerement remarquable pour le domaine des archées, qui est actuellement sous-représenté par les amorces « universelles » (ELOE-FADROSH et al., 2016).

Dans le cadre de ce projet, une analyse préliminaire *in silico* a été effectuée afin d’identifier le potentiel pourcentage de recouvrement pour les domaines des Bacteria et Archaea de chaque amorce ou couple d’amorces. Ces pourcentages de recouvrement ont été calculés avec **SILVA TestPrime**² et **TestProbe**³ et la base de données SILVA SSU r138. Le couple final d’amorce utilisé est détaillé dans le tableau 2.6, il cible les régions V4-V5.

TABLEAU 2.6 – Caractéristiques des amorces utilisées pour le séquençage de l’ADN 16S.

Amorces	Séquences (5’ à 3’)	Température d’hybridation	Longueur de l’amorce	Taille du produit de pcr (pb)	Référence
515F-Y	GTG YCAG CMG CCG CGG TAA	58 à 62°C	19	411	Parada et al., 2016 modifié d’après Quince et al., 2011
926R	CCG YCA ATT YMT TTR AGT TT	46 à 54°C	20		

Les bases ambiguës, c’est-à-dire différentes de A, T, C, G ou U, correspondent à la nomenclature définie par l’IUPAC⁴ ainsi Y = C ou T, M = C ou A et R = A ou G.

2.4.2.2 Amplification et séquençage

La PCR (*Polymerase Chain Reaction*) est une technique moléculaire permettant d’amplifier un fragment d’ADN. Cette amplification est réalisée par une succession de synthèse enzymatique d’ADN à partir d’amorces ciblant le fragment à amplifier.

Les conditions d’amplification par PCR pour les différents types d’échantillons sont précisées dans le tableau 2.7. Les PCR furent effectuées pour un volume réactionnel de 25 µL contenant 0,5 µM de chaque amorce (Tableau 2.6) (Eurogentec), 1X du master mix AmplitaqTM Gold 360 (contenant du MgCl₂, des dNTP et l’ADN polymérase) (Thermo Fisher Scientific) et 1 µL d’ADN à 10 ou 2 ng.µL⁻¹. Les PCR ont été réalisées en triplica, qui seront par la suite poolés et 50 µL finaux sont envoyés à la plateforme de séquençage Genotoul (Toulouse, France) pour un séquençage MiSeq Illumina (2x 250 pb). Les amplifications furent contrôlées par des électrophorèses sur gel à 1% d’agarose.

Pour contrôler l’efficacité de ces étapes d’amplification et de séquençage, nous avons utilisé une **MOCK communauté**. Il s’agit d’une communauté artificielle dont la composition et les proportions relatives en microorganisme sont connues. Nous avons utilisé le standard *Microbial Community Standard* (ZymoBIO-MICS), composé d’un mélange d’ADN de 10 espèces bactériennes. Cet ADN suivra les étapes de PCR et de séquençage identiquement aux échantillons.

2. SILVA TestPrime 1.0. Disponible à l’adresse : <https://www.arb-silva.de/search/testprime/>. Consulté en juin 2017. .

3. SILVA TestProbe 3.0. Disponible à l’adresse : <https://www.arb-silva.de/search/testprobe/>. Consulté en juin 2017.

4. IUPAC, Union internationale de chimie pure et appliquée. Disponible à l’adresse <https://iupac.org>.

TABLEAU 2.7 – Conditions de PCR par type d'échantillons.

Etapes	Température (°C)	Temps	Nombre de cycle
SED & PA			
Dénaturation initiale	95	10 min	-
Dénaturation	95	30 s	
Hybridation	60	30 s	35 cycles
Elongation	72	45 s	
Elongation finale	72	7 min	-
FL			
Dénaturation initiale	95	10 min	-
Dénaturation	95	30 s	
Hybridation	64	30 s	30 cycles
Elongation	72	45 s	
Elongation finale	72	7 min	-

2.4.2.3 Traitements bioinformatique et statistique

2.4.2.3.1 Traitement des séquences de l'ADN 16S obtenues par séquençage Illumina

Le traitement de données produites à la suite d'un séquençage nécessite l'emploi d'outils bioinformatiques spécifiques. Actuellement, de nombreux pipelines ou logiciels sont disponibles afin de traiter, simplifier et homogénéiser ces approches bioinformatiques. Dans notre cas de figure, les amplicons du gène de l'ARNr 16S obtenu auprès de la plateforme de séquençage ont été analysés à l'aide du package **dada2** (*Divisive Amplicon Denoising Algorithm*) (1.16.0) (CALLAHAN et al., 2016a) sur le logiciel R (R CORE TEAM, 2020). Brièvement, **dada2** se démarque par l'emploi d'un algorithme permettant à partir des séquences, d'estimer le taux d'erreur lors du séquençage et donc de repérer plus fidèlement des séquences présentant un taux d'erreur trop important et devant être supprimées.

Les séquences ont été dans un premier temps filtrées, demultiplexées et derepliquées. D'après l'inspection de la qualité des séquences, les séquences de mauvaise qualité (présentant des bases ambiguës, plus de deux erreurs attendues,) ont été supprimées. La partie correspondant aux amorces a été supprimée et les séquences ont été tronquées (à 240 pb pour les sens et à 225 pour les anti-sens). Généralement, le long de l'amplicon, on tend à observer une perte d'efficacité du séquençage notamment pour les reverses, la fin des amplicons présente généralement un score de qualité bien plus faible que le reste, c'est pour cette raison que les amplicons sont légèrement tronqués.

Le **demultiplexage** consiste simplement au regroupement de toutes les séquences correspondant aux différents échantillons dans un même fichier. La **dereplication** revient elle à l'assemblage de toutes les séquences identiques, elles seront combinées ensemble sous le label de "séquence unique" par échantillon. Cette étape n'influence pas concrètement l'analyse des séquences, mais permet de réduire drastiquement le temps d'ana-

lyse nécessaire pour un jeu de données.

S'en suit l'association des séquences sens et anti-sens, pour regrouper ces différentes sens de lecture une zone de recouvrement (overlap) est nécessaire. Dans le cadre de cette étude, le recouvrement minimum a été défini à 40 pb. La table des séquences enfin construite. Une dernière étape de filtration est nécessaire, elle revient à la suppression des séquences chimériques.

La dernière grande étape de ce traitement des séquences d'ADN est l'assignation taxonomique. Les séquences seront alors comparés indépendamment à des bases de données de référence. Cette étape nous permet de signer à chaque séquence une taxonomie. Cette dernière vous êtes peut-être plus ou moins précise en fonction des séquences. Il existe différentes bases de données, chacune présentant des avantages et des inconvénients. Dans le cadre de ce projet de thèse, la base de données qui a été employée est la **SILVA SSU r138**⁵ (QUAST et al., 2013) et l'assignation taxonomique fut réalisée à l'aide de la fonction **IDTAXA** (MURALI et al., 2018) issue du package R DECIPHER (2.16.1) (WRIGHT, 2016).

Au final, dada2 produira une matrice consistuée d'ASV (Amplicon Sequence Variants), l'assignation taxonomique de ces derniers à l'inverse des OTU (Operational Taxonomic Units) n'est fixée par une limite de dissimilarité finie (généralement 3%).

La table d'ASV ainsi obtenue, couplée la taxonomie de ces ASV a été traduite au format phyloseq (1.32.0) (MCMURDIE & HOLMES, 2013) pour une analyse plus détaillée des profils microbiens. Les séquences ont été en suivant raréfiées afin de permettre la comparaison de la composition des différents échantillons.

2.4.2.3.2 Mesure de la diversité

- **Diversité alpha**

Comme indiqué dans le Chapitre 1.4.5.1, afin d'approcher la biodiversité des populations échantillonnées, il est nécessaire d'employer des estimateurs de la biodiversité. Dans le cadre de ce projet, nous avons employé 3 différents estimateurs assez largement référencés : **Chao1**, l'**indice de Shannon** et l'**indice de Simpson**.

Le Chao1 (\hat{S}_{Chao1}) (Equation (2.1)) est un estimateur de la richesse spécifique permettant de corriger la richesse spécifique observée (le nombre d'ASV observés) en prenant en compte une estimation de la proportion d'ASV rares non détectés (CHAO, 1984). Cette estimation est réalisée à partir du nombre de singletons et de doubletons observés. Pour rappel, un singleton est un ASV apparaissant une seule fois et un doubleton, deux fois. Cet estimateur est basé sur la fréquence des ASV rares, estimant qu'une forte proportion d'ASV rare est implique qu'une abondance importante d'ASV n'a pas été détecté.

$$\hat{S}_{Chao1} = S_{obs} + \frac{n_1^2}{2n_2} \quad (2.1)$$

5. SILVA rRNA database project. Disponible à l'adresse <https://www.arb-silva.de>.

où S_{obs} est le nombre total d'ASV dans l'échantillon (soit la richesse spécifique observée), n_1 et n_2 sont respectivement les nombres de singletons et de doubletons présents dans l'échantillon.

Deux échantillons peuvent présenter une richesse spécifique identique mais présenter une diversité différente en fonction de la proportion des différents ASV. L'indice de Shannon (H') (Equation (2.2)), aussi appelé Shannon–Weaver ou Shannon–Wiener, est un estimateur de la diversité qui prend en compte la proportion des ASV dans le calcul de la diversité (SHANNON, 1948). Plus l'indice de Shannon est élevé, plus la richesse de l'échantillon l'est et les proportions des différents taxons similaires.

$$H' = - \sum_{i=1}^N p_i \times \ln(p_i) \quad (2.2)$$

où N est le nombre d'ASV observé et p_i est la probabilité qu'un individu tiré au hasard appartienne à l'ASV i .

L'indice de Simpson (D) est proche de celui de Shannon, il estime la diversité à partir de la richesse et la proportion de chaque ASV (SIMPSON, 1949). Néanmoins, ce dernier est compris entre 0 et 1. Pour des raisons pratiques, nous avons employés l'inverse de Simpson soit $1 - D$ (Equation (2.3)). Ainsi, plus cet indice est proche de 1, plus l'équitabilité est importante, et inversement lorsqu'il tend vers 0.

$$1 - D = 1 - \sum_{i=1}^N p_i^2 \quad (2.3)$$

où N est le nombre d'ASV observé et p_i est la probabilité qu'un individu tiré au hasard appartienne à l'ASV i .

Bien que similaire, ces deux derniers indices se distinguent, l'indice de Simpson sera influencé par les ASV les plus abondants dans l'échantillon et celui de Shannon par les rares.

• Diversité bêta

Pour rappel, la diversité bêta détermine la différence de diversité ou de composition entre deux sites ou échantillons. On parlera ici de similarité ou dissimilarité. De manière identique à la diversité alpha, il existe de nombreux estimateurs de la diversité bêta, chacun présentant des intérêts et inconvénients. Ici, nous avons généralement employé, l'**indice de dissimilarité de Bray-Curtis** β_{bray} (Equation (2.4)) (BRAY & CURTIS, 1957).

$$\beta_{\text{bray}} = \frac{\sum_{i=1}^N |p_{i_A} - p_{i_B}|}{\sum_{i=1}^N p_{i_A} + p_{i_B}} \quad (2.4)$$

où p_{i_A} , p_{i_B} sont les abondances de l'espèce/OTU/ASV i dans les échantillons/sites A et B. Cet indice est lui aussi compris entre 0 et 1. Plus sa valeur est proche de 1, plus les échantillons/sites sont dissemblables

et contiennent donc des espèces/OTU/ASV distincts.

La diversité bêta peut être scindée entre la part de la diversité liée à la **richesse** et celle associée au **remplacement** (« Turnover ») d'espèces entre sites (BASELGA, 2010). Ceci peut être facilement résumé par l'équation (2.5).

$$\beta_{total} = \beta_{rich} + \beta_{repl} \quad (2.5)$$

où β_{total} correspond à la diversité bêta ; β_{rich} et β_{repl} correspondent à la part de la diversité respectivement à la richesse et au remplacement. Pour ce calcul, nous avons employé le package R `betapart` (1.5.3). Les indices de dissimilarité sur lequel ce partitionnement peut être réalisé étant limités, nous avons pour ce calcul employé un second indice de dissimilarité, celui de **Jaccard**. Cet indice est relativement similaire à celui de Bray-Curtis, à l'exception que ce premier s'appuie sur des données de présence-absence d'espèces/OTU/ASV entre deux sites (Equation (2.6)) et Bray-Curtis se base lui sur des abondances d'espèces/OTU/ASV (Equation (2.4)).

$$\beta_{Jacc} = \frac{N_{A,B}}{N_{A,B} + N_{A \cap B} + N_{B \cap A}} \quad (2.6)$$

où $N_{A,B}$, $N_{A \cap B}$ et $N_{B \cap A}$ sont respectivement le nombre d'espèces observées dans les sites A et B simultanément, le nombre d'espèce observée uniquement dans le site A et le nombre d'espèce observée uniquement dans le site B.

2.4.2.3.3 Autres approches statistiques

De manière plus générique, les différents calculs et approches statistiques employés pour décrire et interpréter la structuration des communautés microbiennes ou les facteurs abiotiques permettant de décrire ces communautés sont brièvement détaillés dans le tableau 2.8.

TABLEAU 2.8 – Descriptif des outils et analyses statistiques.

Outils ou méthode	Type d'analyse	Détails	Packagde de R permettant l'analyse	Référence
Corrélation de Pearson	-	-	cor - package stats (4.1.0)	R Core Team, 2020
CAH	Classification ou Clustering	Classification ascendante hiérarchique (<i>Hierarchical ascendant clustering</i>)	hclust - package stats	R Core Team, 2020
Nuée dynamique (Kmeans)	Classification ou Clustering	Méthode des kmeans - méthode de classification non supervisée	kmeans - package stats	R Core Team, 2020
Diagramme de Venn	-	-	package VennDiagram (1.6.20)	Chen et al., 2011
NMDS	Ordination (Non contrainte)	Positionnement multidimensionnel non métrique (<i>Non-metric Multidimensional Scaling</i>)	package vegan (2.5-7)	Oksanen et al., 2020
ACP	Ordination (Non contrainte)	Analyse en Composantes Principales (<i>Principle Components Analysis</i>)	package ade4	Dray et al., 2007
CCA	Ordination (Contrainte)	Analyse Canonique des Correspondance (<i>Canonical Correspondence Analysis</i>)	package stats	R Core Team, 2020
PERMANOVA	Test statistique non-paramétrique	Analyse multivariée des variances par permutation (<i>Permutational analysis of variance</i>)	package vegan (2.5-7)	Oksanen et al., 2020
ANOSIM	Test statistique non-paramétrique	Analyse des similitudes (<i>Analysis of similarities</i>)	package vegan (2.5-7)	Oksanen et al., 2020

2.4.3 Analyse de la diversité fonctionnelle : les puces à ADN (Geochip)

La technologie des puces à ADN a été employée dans l'optique d'examiner la structure fonctionnelle des communautés microbiennes. Le large panel de catégorie et de familles de gènes proposés par les puces à ADN **Geochip** permet de faire le lien entre la structure fonctionnelle des communautés microbiennes et les procédés biogéochimiques, écologiques et environnementaux (HE et al., 2007; TU et al., 2014).

La dernière version de puces proposée est celle des **Geochip 5.0 M** qui dispose actuellement d'une couverture de **180 000** amorces correspondant à approximativement à 1 500 familles de gènes fonctionnels impliqués dans l'homéostasie métallique, la résistance antibiotique, la réponse au stress, le transfert d'électrons et des métabolismes secondaires comme la dégradation de contaminant organique, la virulence, etc.

- **Sélection et préparation des échantillons**

De part la quantité minimale d'ADN nécessaire à cette analyse (minimal de 1 µg d'ADN) et les premières observations des analyses des gènes de l'ARNr 16S, seulement une sous-partie des échantillons fut analysée sur Geochip. Précisément, les ADN extraits à partir des SterivexTM, correspondant à la fraction de bactéries libres dans la colonne d'eau (FL), présentaient en moyenne des concentrations en ADN bien inférieures aux restes des échantillons. Ils furent donc rapidement exclus pour cette expérimentation, ne pouvant réunir la quantité d'ADN minimal nécessaire.

Au final, de 1 à 5 µg d'ADN ont été envoyés pour l'analyse en Geochip 5.0M pour un total de 15 échantillons de sédiment et de 18 échantillons correspondant aux communautés associées aux particules (PA), ce sont les échantillons les plus caractéristiques (les plus en amont, aval, etc.) et les plus contrastés (site 6 par exemple) qui furent conservés (Figure 2.11). L'ADN issu des triplicats par site ont été poolés ensemble pour ces analyses afin d'obtenir une quantité d'ADN suffisants.

- **L'hybridation sur Geochip**

La préparation des échantillons, l'hybridation et la lecture des signaux fut réalisés par la plateforme **Glomics Inc.** (Norman Oklahoma, USA). Brièvement, l'ADN est premièrement marqué à l'aide d'un fluorochrome (la Cyanine 3 ou Cyanine 5) (HE et al., 2005b), puis mis au contact des micropuces présentant les sondes correspondants aux gènes d'intérêts à leur surface. Les puces sont en suivant maintenue en chambre d'hybridation (chauffé et à l'obscurité) pendant plusieurs heures. Après cette étape d'hybridation, les puces sont lavées afin de se défaire des brins d'ADN marqués non hybridés, puis séchées et scannées (HE et al., 2005b; HE et al., 2018). Les images scannées sont ensuite analysées, les spots de mauvaise qualité sont supprimés, l'intensité de chaque spot est normalisée par la moyenne et les spots de faible intensité sont supprimés en fonction de la valeur du ratio signal sur bruit (SNR) (HE et al., 2007). Après réception des données, l'analyse des données de Geochip a été réalisée sur le logiciel R (R CORE TEAM, 2020).

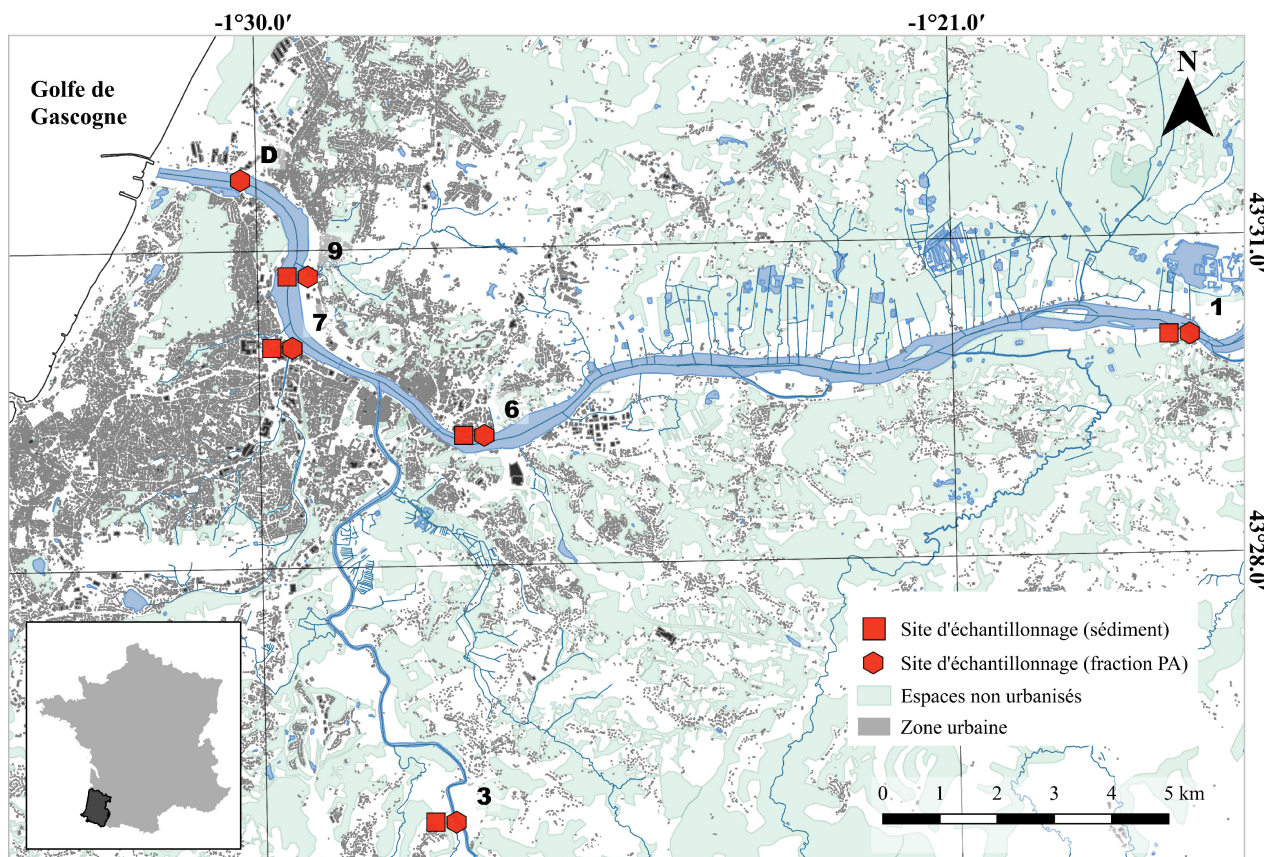


FIGURE 2.11 – Carte de la localisation des sites conservés pour l'analyse fonctionnelle (Geochip) des communautés microbiennes.

2.4.4 Construction et analyse de réseaux microbiens

Afin d'identifier les assemblages microbiens prenant place dans les différentes matrices (SED, FL et PA) et analyses (séquençage Illumina de l'ADNr 16S et puces à ADN), des réseaux microbiens de co-occurrence ont été élaborés. Ils ont été construits à partir de l'outil en ligne **MENAp** (*Molecular Ecology Network Analysis pipeline*) (ZHOU et al., 2011 ; DENG et al., 2012).

La construction des réseaux par MENAP est basée sur la théorie des matrices aléatoires **RMT** (Random Matrix Theory) (LUO et al., 2006). Elle s'organise en 4 grandes étapes (DENG et al., 2012) :

- Introduction des données

Pour les analyses des gènes de l'ARNr 16S, ce sont les tables d'ASV (abondance de chaque ASV par site) qui servent de base à la construction des réseaux. Pour les analyses des puces à ADN, c'est l'abondance des gènes qui furent utilisés.

- Filtration et standardisation des données

Lors de la création des réseaux, les ASV ou gènes sont au préalable filtrés en fonction de leur occurrence

au sein des différents sites/échantillons. Les différents réseaux présents au sein de ce travail de thèse ont été construits à ASV/gènes présentant une occurrence minimale allant de 22 à 42% en fonction du jeu de données. La standardisation des abondances relatives est une option facultative et est fonction du choix de l'opérateur. Pour les analyses réalisées dans le cadre de cette thèse, aucune standardisation ne fut effectuée.

- Calcul de la similarité deux à deux des abondances

Ici, nous avons la **corrélation de Pearson** pour ce calcul de similarité (ZHOU et al., 2011).

- Détermination de la matrice finale d'après une approche basée sur la RMT

Au-delà de la construction du réseau, MENAP propose un certain nombre d'analyses. Ainsi, ce pipeline fut employé pour la détection de modules, c'est-à-dire des groupes de noeuds (correspondant aux ASV ou aux gènes) présentant une densité intragroupe supérieure à l'intergroupe (NEWMAN, 2004). Brièvement, ces modules ont été détectés via la méthode d'optimisation de la modularité nommé : *greedy modularity optimization* (NEWMAN, 2004; CLAUSET et al., 2004). Finalement, les réseaux furent visualisés à l'aide des logiciels Cytoscape (3.8.0) (SHANNON et al., 2003) et Gephi (0.9.2) (BASTIAN et al., 2009).

Chapitre 3

Distribution et dynamique des micropolluants chimiques prioritaires et émergents dans l'estuaire de l'Adour

3.1 Introduction

Dans ce chapitre, nous nous focaliserons à la **distribution et l'occurrence des micropolluants** chimiques au sein des différents d'échantillons.

Ces différents prélèvements ont permis l'analyse d'une série de contaminants réunis au sein de **9 catégories**, on distingue ainsi : les métaux, les organométaux, les HAP, les PCB, les pesticides organochlorés, les muscs synthétiques, les alkylphénols, les filtres UV et les résidus pharmaceutiques.

Nous décrirons d'abord les différents profils de contamination en fonction de la position des sites de prélèvement le long de la zone estuarienne. Ensuite, nous nous intéresserons à l'influence des différentes périodes d'échantillonnage, et donc des **saisons**, sur les catégories de contaminants et profils précédemment décrits. Dans un dernier temps, nous nous intéresserons aux **relations statistiques** entre les variables environnementales descriptives et les contaminants et nous tenterons d'identifier les variables les plus pertinentes permettant la description de la variabilité des micropolluants et l'étude de l'impact des micropolluants chimiques sur les communautés microbiennes.

Pour l'heure, une part des données ne sont pas disponibles pour les eaux (brutes et filtrées), il s'agit des

concentrations en contaminants organiques au printemps correspondant aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), aux polychlorobiphényles (PCB), aux pesticides organochlorés, aux muscs synthétiques, aux alkylphénols et aux filtres UV.

Brièvement, ces 9 catégories de contaminants correspondent à un total de **139** substances, dont **135** étaient suivis dans les matrices eau et **125** dans les sédiments. Sur l'ensemble des substances chimiques ciblées quelle que soit la campagne, **98%** (122 sur 125) d'entre elles ont été quantifiées dans la matrice sédiment, **59%** (53 sur 90) dans la matrice eau totale et **52%** (70 sur 135) dans la fraction dissoute (Annexes, tableau A3.1). Certains contaminants ont été identifiés uniquement dans l'une ou l'autre des matrices (Annexes, figure A3.1).

Bien que quantifiés, ces contaminants ne sont pas forcément mesurés pour l'ensemble des échantillons. L'omniprésence d'un contaminant au sein de l'ensemble des échantillons peut être décrite via la fréquence de quantification qui est illustrée en annexe (Figures A2.2 et A2.3). Pour une nécessité de lisibilité, pour les eaux, les contaminants pour lesquels la fréquence de quantification est inférieure à 0,2 ne sont pas représentés (Annexes, figure A2.2). Pour les sédiments, seuls les contaminants présentant des fréquences de quantification supérieures à 0,8 sont illustrées (Annexes, figure A2.3). Les observations précédemment réalisées ne prenaient pas en compte les concentrations réellement observées pour chacune des substances et des matrices dans cette étude. Ces concentrations ont été synthétisées au sein des tableaux en annexe : A2.2, A2.3 et A2.4.

La quasi-totalité des contaminants ciblés ont été détectés et/ou quantifiés à quelques rares exceptions dont cinq résidus pharmaceutiques : l'avobenzone (BM-DBM), l'ampicilline, l'estrone (E1), 17β -œstradiol (E2), 17α -éthinyloestradiol (EE2) et deux alkylphénols : le 4n-octylphénol (4nOP) et le 4t-octylphénol (4tOP). Néanmoins, l'absence de ces substances n'implique pas leur réelle absence dans l'échantillon ou dans l'écosystème. Pour certains composés, on pourrait s'interroger la nécessité d'adapter les méthodes de préconcentration afin d'abaisser leur limite de quantification et pouvoir les inclure dans les facteurs pouvant avoir un impact sur les écosystèmes. A titre d'exemple, le 4nOP et le 4tOP avaient été détectés dans les effluents de STEU (Station de traitements des eaux usées) le long l'estuaire de l'Adour et ne l'ont plus été dans les eaux de l'estuaire après dilution des effluents (CAVALHEIRO et al., 2017).

Les matrices sédimentaires sont caractérisées par un nombre de substances détectées (Annexes, tableau A3.1 et figure A3.1) et des fréquences de quantification plus marquées que pour les eaux, et quelle que soit la fraction (Annexes, figure A2.2). Cette observation est assez attendue puisque les sédiments sont des matrices dites « **intégratrices** » (ZHANG et al., 2016; BRANCHET et al., 2021). Ces matrices sont moins fluctuantes que les eaux et sont plus représentatives d'une contamination chronique d'un écosystème. En cela, les sédiments sont des réservoirs de contamination qui vont piéger les contaminants mais en fonction de paramètres environnementaux (LIANG et al., 2013) (comme le pH ou la salinité) pourront être des sources secondaires de contaminant pour les matrices eaux (GAW et al., 2014; FABBRI & FRANZELLITTI, 2016). D'ailleurs à titre indicatif, le profil granulométrique des sédiments est détaillé en annexe, figure A2.4.

3.2 Profils de contamination en fonction de la position le long de la zone estuarienne

Comme détaillé au **Chapitre 2.1.1**, l'échantillonnage au sein de ce projet fût défini de manière à couvrir l'ensemble de la zone estuarienne. Pour rappel, trois types de sites de prélèvements sont distingués en fonction de leur position le long de l'estuaire : les **sites amonts** (numérotés de 1 à 4), les **sites situés dans la zone urbaine** (numérotés de 5 à 10) et les **sites avals** (labellisés de A à D). De manière similaire à ce qui a été observé pour les différents types de matrices, ici, nous allons nous intéresser premièrement aux pourcentages et aux catégories de contaminants observés pour chaque site en fonction de leur position de long de l'estuaire (Tableau 3.1).

TABLEAU 3.1 – Nombre de composés détectés et pourcentage (%) de détection par catégories de composés chimiques en fonction de leur position le long de la zone estuarienne et campagnes, toutes matrices confondues.

	Amont			Aval			Urbain		
	Printemps	Été	Hiver	Printemps	Été	Hiver	Printemps	Été	Hiver
Alkylphénols	1 (20)	0 (0)	0 (0)	2 (40)	1 (20)	0 (0)	2 (40)	3 (60)	2 (40)
Métaux	23 (100)	25 (100)	25 (100)	17 (89)	19 (79)	19 (79)	23 (100)	25 (100)	25 (100)
Muscs synthétiques	1 (10)	10 (100)	8 (80)	1 (10)	0 (0)	0 (0)	5 (50)	10 (100)	10 (100)
HAP	1 (6)	16 (100)	16 (100)	0 (0)	2 (12)	9 (56)	1 (6)	16 (100)	16 (100)
PCB	0 (0)	7 (58)	6 (50)	0 (0)	3 (27)	2 (18)	0 (0)	11 (92)	9 (75)
Pesticides	0 (0)	13 (72)	12 (67)	0 (0)	1 (6)	0 (0)	0 (0)	18 (100)	16 (89)
Pharmaceutiques	35 (76)	35 (76)	34 (74)	8 (18)	7 (16)	8 (18)	41 (89)	41 (89)	41 (89)
Filtres UV	0 (0)	4 (67)	4 (67)	0 (0)	0 (0)	1 (17)	2 (33)	6 (100)	5 (83)
Total par campagne	61 (45)	110 (80)	105 (76)	28 (22)	33 (24)	39 (29)	74 (55)	130 (94)	124 (90)
Total		117 (85)			50 (37)			131 (95)	

Quelle que soit la campagne et la catégorie de contaminants ciblée, **95%** des micropolluants chimiques ciblés ont été quantifiés dans des sites urbains. Ce pourcentage est conséquent pour les sites amonts, d'une valeur de **85%**, tandis qu'il est uniquement de **37%** pour les sites avals (Tableau 3.1). Cette observation peut être mise en lien avec l'influence des cycles de marée et du mélange avec les eaux marines responsables d'un potentiel effet de dispersion et de dilution, rappelons que les prélèvements ont été réalisés à l'échelle de basse mer. Bien que les sites amont soient situés avant la zone urbaine de Bayonne-Anglet-Biarritz, ils ne sont pas pour autant dépourvus de l'influence des activités (urbaines et agricoles) prenant place au sein du bassin versant. De plus, ces sites restent intra-estuariens, et ainsi, en fonction du coefficient de marée, ces sites peuvent aussi être influencés par la présence de micropolluants chimiques transportés de l'aval vers l'amont. Au-delà de cette valeur générique de contaminants détectés, on peut observer l'évolution de ces pourcentages au sein de différentes catégories de contaminants.

La décroissance du pourcentage de contaminants détectés observée pour les sites aval est rattachable aux **contaminants organiques** dont les pesticides (0 à 6%), les muscs synthétiques (0 à 10%), les résidus

pharmaceutiques (16 à 18%), les filtres UV (0 à 17%), et les PCB (0 à 27%) (Tableau 3.1). Ces catégories correspondent essentiellement à des substances dont l'origine est plutôt liée aux STEU pour les résidus pharmaceutiques, les muscs synthétiques ou les filtres UV, ou au lessivage des sols avec les pesticides dans les zones agricoles ou PCB dans les zones urbaines.

Les sites amont et aval du point de vue du nombre de contaminants détectés sont assez similaires. Néanmoins, les sites urbains présentent un pourcentage de quantification légèrement supérieur à celui des sites amont, notamment pour les contaminants organiques dont les alkylphénols (60% contre 20% pour l'amont), les filtres UV (100% contre 67% pour l'amont) ou les résidus pharmaceutiques (91% contre 87% pour l'amont) (Tableau 3.1).

Les prélèvements réalisés au **printemps** présentent quelle que soit la position sur l'estuaire, des pourcentages de substances quantifiées inférieurs aux autres saisons, avec pour l'amont 45% de composés détectés au printemps contre 80 et 75% en été et hiver, pour l'aval 22% contre 24 et 29% et pour les sites urbains 55% contre 93 et 89% (Tableau 3.1).

3.2.1 La zone urbaine, source majeure de contamination

3.2.1.1 Les STEU, source des contaminants émergents dans les écosystèmes par les matrices eau

Les matrices eau présentent un pourcentage de contaminants quantifiés d'une valeur de **59%** à **52%** pour les teneurs totales et dissoutes. De nombreux contaminants n'ont pas été quantifiés dans ces deux matrices et particulièrement les contaminants organiques (Annexes, tableau A3.1). Néanmoins, bien qu'un nombre plus réduit de contaminants soit mesuré dans ces matrices, généralement, lorsqu'ils le sont, ils tendent à être préférentiellement observé pour des sites urbains et surtout le site **6** (situé à proximité du rejet de la STEU de S^t Frédéric) (Figure 3.1). Bien que ces sites présentent aussi des concentrations en divers contaminants organiques listés comme prioritaires, la distribution des contaminants organiques émergents est bien plus remarquable ici. Les « **heatmaps** » sont des représentations graphiques illustrant par site, la concentration centrée et réduite pour chaque contaminant. Donc, dans ces heatmaps, la moyenne des concentrations par contaminant est nulle et l'écart-type est égal à un. Ces concentrations centrées réduites sont employées afin de visualiser l'écart des concentrations entre chaque contaminant sur un même graphique. Plus la couleur est sombre, plus la concentration correspondante est importante pour le site par rapport aux autres sites. Les contaminants émergents non illustrés ici correspondent à des substances présentant des valeurs nulles (concentrations inférieures à la LD) (Figure 3.1).

Il est plus rare qu'un contaminant soit quantifié dans l'eau, mais lorsqu'il l'est, c'est préférentiellement pour le **site 6** (Figure 3.1). Cette observation est visible pour les différentes fractions mais légèrement plus marquée pour la fraction dissoute (Figure 3.1A et B). Plus sporadiquement, des concentrations supérieures à la

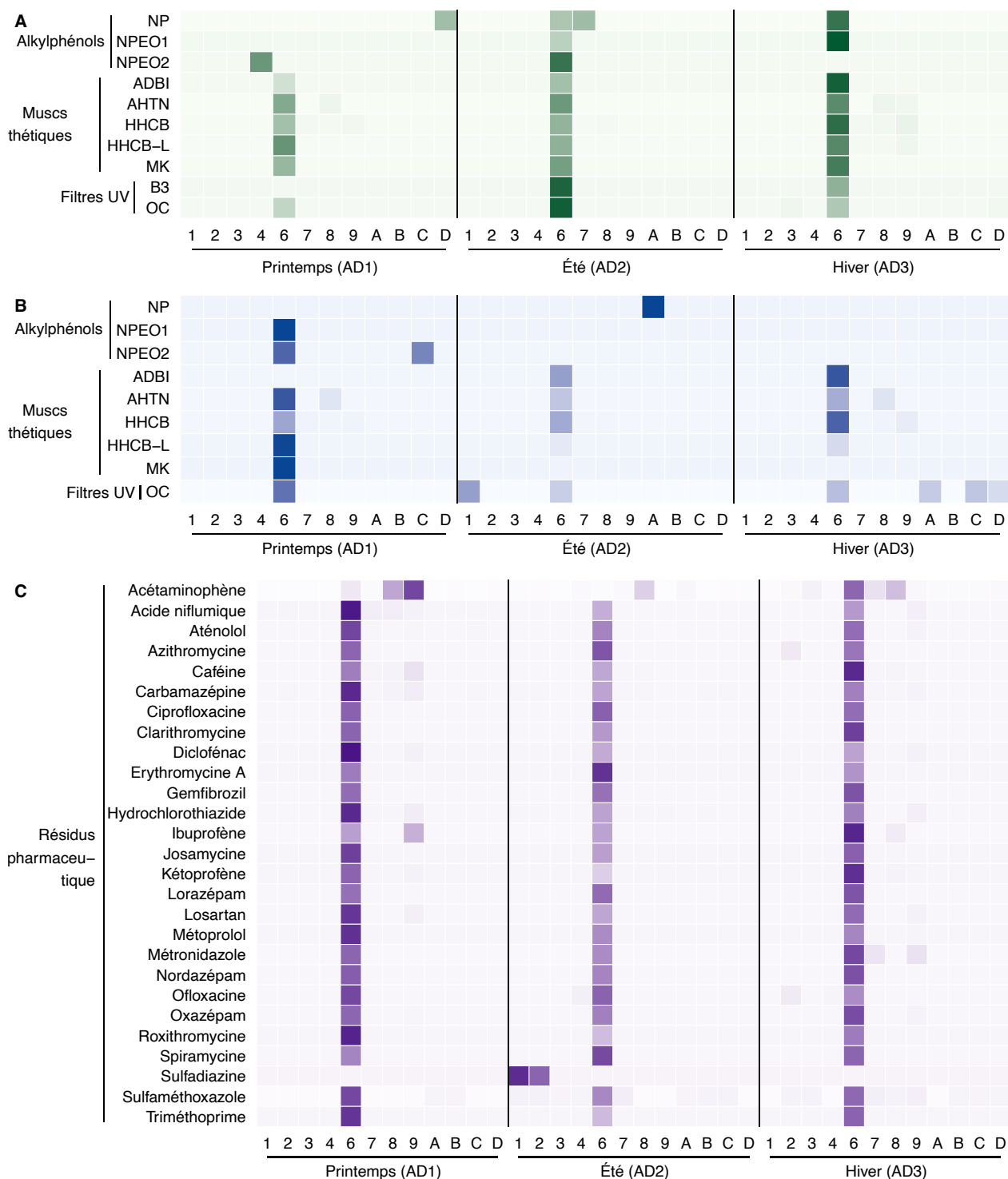


FIGURE 3.1 – Heatmaps des concentrations centrées réduites en contaminants organiques émergents dans les eaux pour dans les eaux brutes (A), la fraction dissoute (B) et les concentrations en résidus pharmaceutiques (C) dans les eaux pour la fraction dissoute.

moyenne sont aussi observables pour les sites 7 ou 8, deux sites urbains situés à proximité de deux effluents urbains, l'Aritxague et le Maharin respectivement.

Bien que ce site 6 présente des concentrations plus élevées pour de nombreux contaminants, les concentrations correspondantes ne sont pas forcément préoccupantes (car au sein de la heatmap, elles sont centrées et réduites). Cependant, dans les tableaux en annexe A2.3 et A2.4, on peut remarquer que certains contaminants (dont les résidus pharmaceutiques dans la fraction dissoute ou l'HHCB dans les eaux brutes) présentent des concentrations maximales et/ou des moyennes de concentrations très largement supérieures à celles qui peuvent être observées dans d'autres estuaires français ou dans l'estuaire de l'Adour auparavant. Ainsi, les STEU sont émettrices d'un cocktail de contaminants dans le milieu estuarien. D'autant plus que le maximum des concentrations pour certains contaminants prioritaires est aussi observé pour ce même site. C'est aussi le cas pour le MMHg (méthylmercure) (obtenu pour le site 6 en été avec une valeur de $0,23 \pm 0,03 \text{ ng.L}^{-1}$ pour la teneur totale et $0,11 \pm 0,0006 \text{ ng.L}^{-1}$ pour le dissous) ou le plomb (Pb) (obtenu pour le site 6 au printemps avec une valeur de $3,61 \pm 1,18 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ pour la teneur totale) .

3.2.1.2 Contamination chimique des sédiments dans la zone urbaine

Les sédiments présentent un pourcentage de contaminants détectés supérieur aux matrices eau (Annexes, tableau A3.1). Plus de sites appartiennent à la catégorie des sites urbains pour les sédiments que pour les eaux, il s'agit des sites numérotés de 5 à 10.

Différents sites présentent des maximums en concentrations, cependant, le site **7** (situé à proximité de l'Aritxague, un effluent urbain) ainsi dans une moindre mesure le site **8** (situé à proximité du Maharin, lui aussi un effluent urbain) sont les sites qui présentent les concentrations les plus marquées en contaminants organique prioritaires et émergents, ainsi que le plus grand nombre de détection (Figure 3.2).

Le site 7 par rapport aux autres sites présente des concentrations plus important en HAP (surtout en hiver), en musc (p.ex. le HHCB-L en été, le AHMI en hiver), en PCB (p.ex. les PCB 28+31 et 52 en été), en pesticides (p.ex. l' -endosulfan et le dieldrine en été ou l'endrine kétone et le méthoxychlore en hiver) et en filtres UV (p.ex. l'OC et le 4-MBC) (Figure 3.2).

Plus ponctuellement, d'autres sites se démarquent, tel que le site 5 caractérisé par la présence en filtre UV (le EHMC et le OD-PABA) au printemps, le site 9 (situé à proximité de la STEU de Snt Bernard) avec la présence de PCB (surtout le PCB 180) en hiver ou le site 10 avec la présence de PCB (PCB 44 et PCB 194) et de pesticides (le 4'4-DDT, le -endosulfan et l'endosulfan sulfate) au printemps (Figure 3.2).

3.2.1.3 Le cas particulier des antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances employées pour lutter contre les microorganismes, on peut s'attendre à ce que la présence d'antibiotique altère la structure des communautés microbiennes en modifiant la survie de certains organismes et en favorisant d'autre possédant d'éventuels gènes de résistance (GULLBERG et al.,

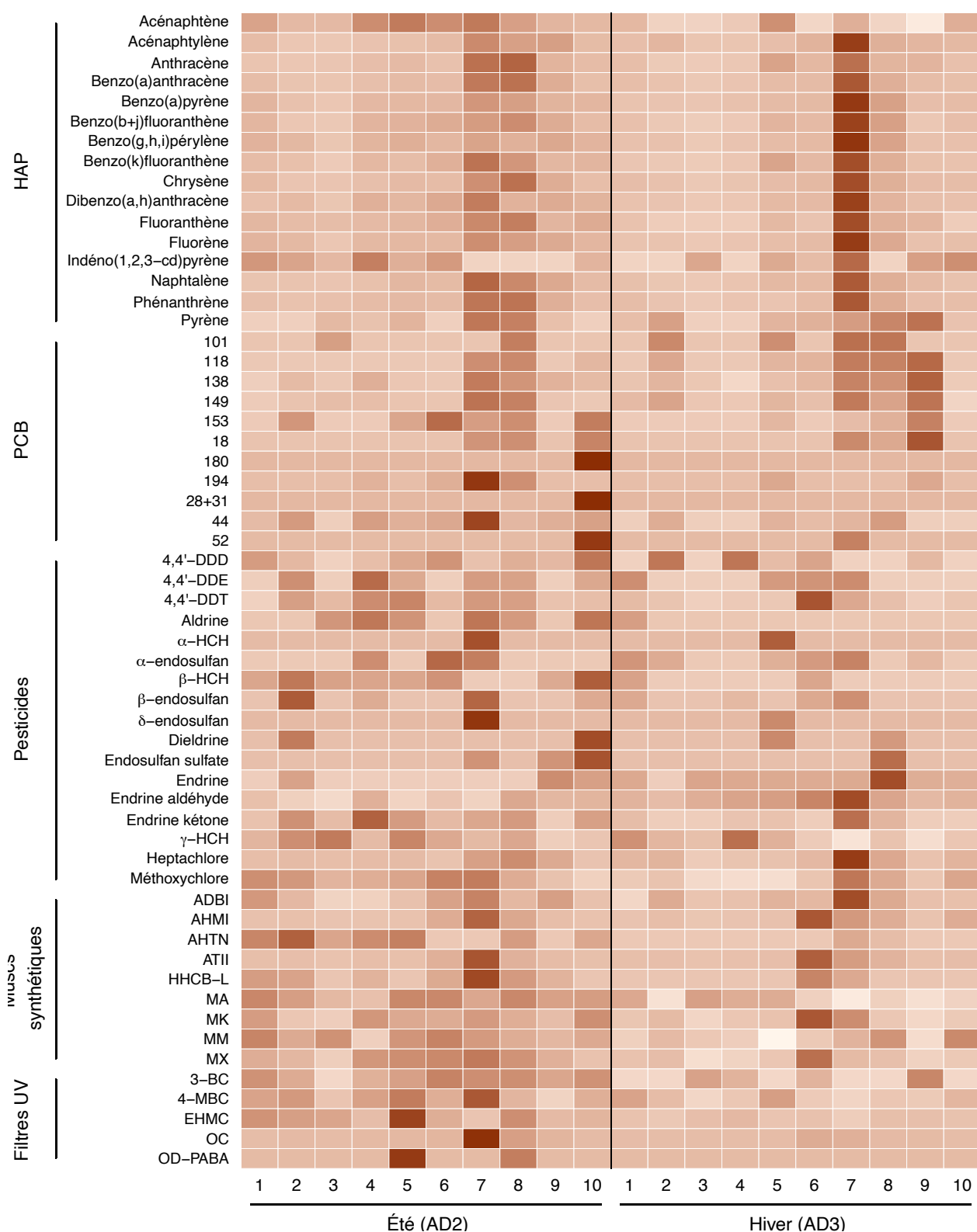


FIGURE 3.2 – Heatmaps des concentrations centrées réduites en contaminants organiques prioritaires et émergents dans les sédiments estuariens.

2011; OBERLÉ et al., 2012; MICHAEL et al., 2013; ANDERSSON & HUGHES, 2014; ESTRELA & BROWN, 2018).

Théoriquement, on s'attend à détecter des antibiotiques à la fois dans la zone en amont de l'estuaire, en lien avec les activités agricoles d'élevages intensifs (ARIKAN et al., 2008; KIVITS et al., 2018; SCHULZ et al., 2019) ainsi que dans la zone urbaine aval à proximité des STEU, dû aux rejets éventuels issus des installations hospitalières, maisons de retraite ou des usages vétérinaires (MICHAEL et al., 2013; GAW et al., 2014; EDUARDO-CORREIA et al., 2020; HAENNI et al., 2022).

Dans les eaux de l'estuaire de l'Adour, un total de 10 antibiotiques a été détecté, ils sont présents au site 6 soit sous l'influence directe et au niveau de l'effluent de la STEU de S^t Frédéric (Bayonne). Nous observons des concentrations importantes en antibiotique uniquement à proximité des STEU, le signal amont n'est ici clairement pas visible. Ces concentrations sont assez similaires quelle que soit la saison, sur l'ensemble des trois campagnes d'échantillons. Pour ce site, les concentrations moyennes (en ng.L⁻¹) sont de 220 ± 84,0 pour l'érythromycine A, de 194 ± 48,5 pour l'ofloxacin, de 166 ± 19,6 pour l'azithromycine, de 159 ± 34,3 pour la spiramycine, de 147 ± 34,2 pour le sulfaméthoxazole, de 131 ± 6,50 pour la ciprofloxacine, de 113 ± 27,8 pour le métronidazole, de 97,0 ± 31,7 pour la clarithromycine, de 79,9 ± 41,9 pour la triméthoprime, de 62,8 ± 38,6 pour la roxithromycine et finalement de 12,5 ± 4,47 pour la josamycine (Figure 3.3). Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles observées dans la littérature pour des eaux usées traitées urbaines en France (ANSES, 2020).

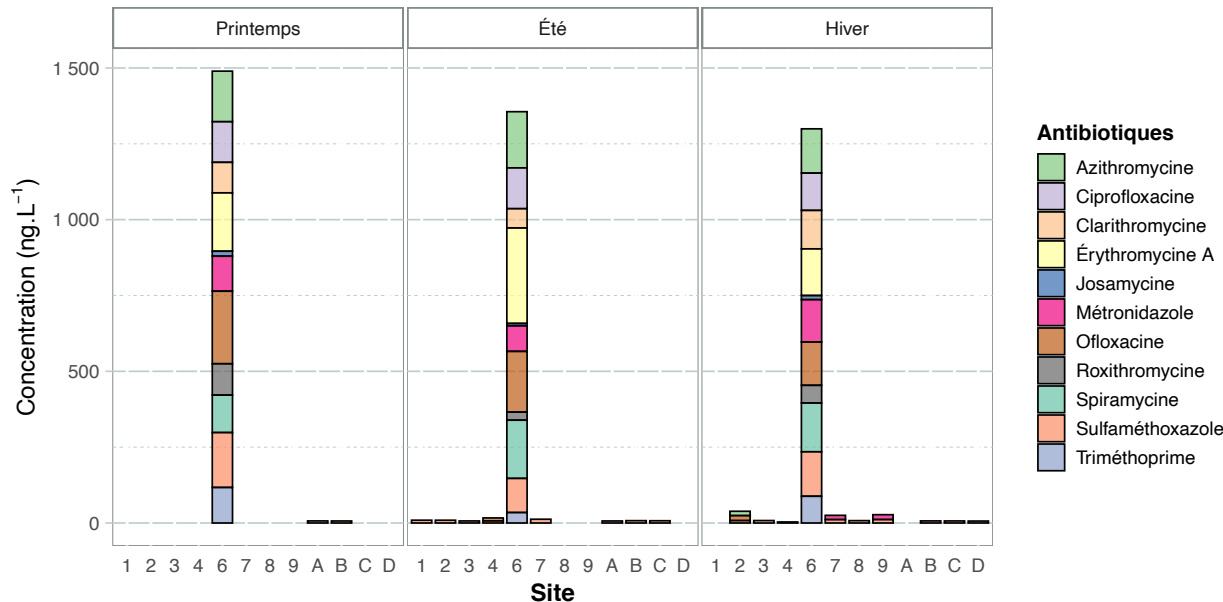


FIGURE 3.3 – Concentrations (ng.L⁻¹) en **antibiotiques** dans la fraction dissoute des eaux de l'estuaire de l'Adour.

Dans les sédiments, ce sont 21 antibiotiques qui ont été détectés, mais uniquement 16 d'entre eux présentent une somme totale sur l'échantillonnage supérieure à 1 µg.kg⁻¹ (Figure 3.4). Les sédiments présentent un profil

de contamination bien distinct de celui des eaux. La somme des concentrations par site en antibiotiques est comprise entre 0,020 et 75,9 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ à l'exception du site 7 en hiver qui présente une somme des concentrations bien supérieure atteignant la valeur de 319 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, due à la présence importante de ciprofloxacine (266 $\mu\text{g.kg}^{-1}$). Hormis l'hiver, le site 7 présente des concentrations en antibiotiques qui sont parmi les plus élevées au printemps (55,4 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) et en été (75,9 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) (Figure 3.4).

A cette exception, la présence d'antibiotiques n'est pas ici caractérisée par une variabilité saisonnière (Figure 3.4). Les sédiments peuvent être des réservoirs pour les antibiotiques et en fonction des paramètres environnementaux, être aussi des sources secondaires de contamination (GAW et al., 2014; FABBRI & FRANZELLITTI, 2016).

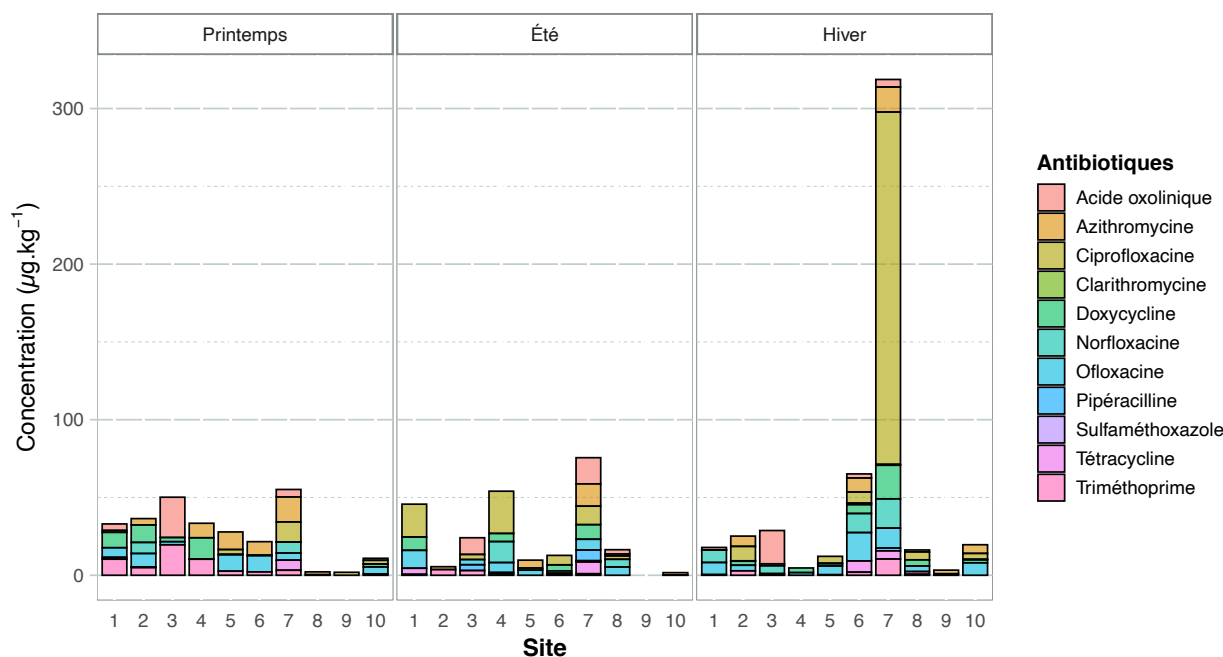


FIGURE 3.4 – Concentrations ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) de séd.secs en **antibiotiques** dans les sédiments de l'estuaire de l'Adour. es antibiotiques dont la somme totale des concentrations est inférieure à 1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de séd.secs ont été exclus de cette représentation.

3.2.2 Variation spatiale de l'amont à l'aval

Les sites amonts sont situés en amont de la zone urbaine de Bayonne-Biarritz-Anglet. Par leur position et du prélèvement effectué à marée basse, ils sont représentatifs du bassin versant de l'Adour, bien que dans la zone de marée dynamique de l'estuaire de l'Adour. Comme indiqué dans le **Chapitre 2.1.1**, les sites amonts sont numérotés 1 et 2 ou 3 et 4, selon s'ils sont positionnés sur les fleuves Adour ou Nive, respectivement. Une portion conséquente des substances ciblées l'a été dans les sites amonts (Tableau 3.1). Pour la majorité des contaminants, les concentrations observées sont bien plus faibles que pour les sites situés dans la zone urbaine (Figures 3.1 et 3.2). Bien que non caractérisés par les pics de concentrations en contaminants, ces

sites ne s'avèrent pas correspondre non plus à des sites de références. Ils présentent en général une valeur de fonds pour les contaminants tels que les métaux, organométaux et contaminants organiques prioritaires dans les eaux ou l'ensemble des contaminants dans les sédiments (Figure 3.5).

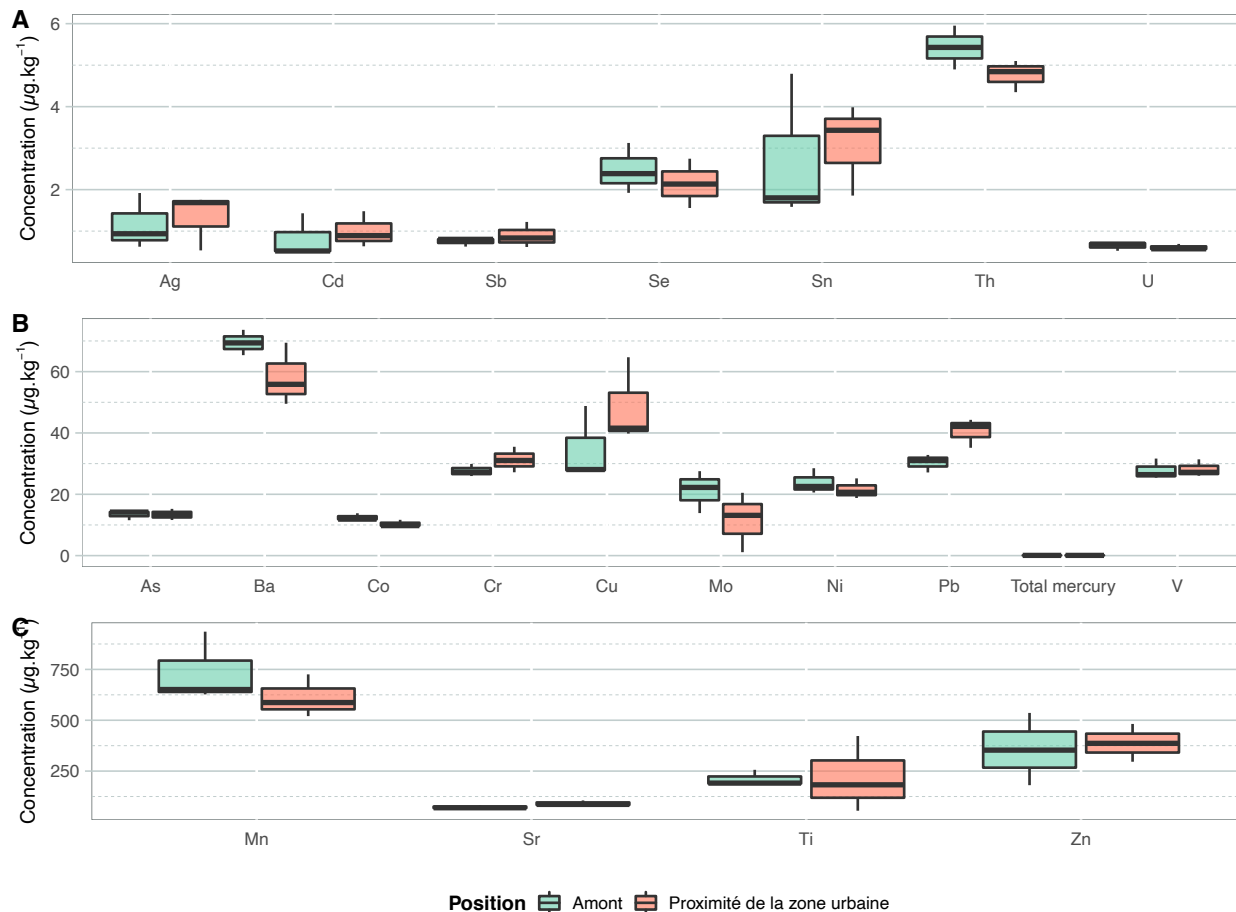


FIGURE 3.5 – Boxplot des concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$) en métaux dans les sédiments en fonction du positionnement amont/aval. Les valeurs sont représentées en fonction de différentes gammes de concentrations allant de 0 à 10 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (A), de 0 à 60 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (B) et de 0 à 750 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (C).

Pour les matrices eau, la majorité des contaminants organiques émergents n'ont pas été détectés dans les eaux (brute et filtrée) (Figure 3.1). Très sporadiquement, certaines substances sont caractérisées ponctuellement pour ces sites comme la sulfadiazine dans la fraction dissoute présentant une concentration de 98,9 ng.L^{-1} pour le site 1 et de 70,3 ng.L^{-1} pour le site 2 au printemps alors que les concentrations de ces composés sont inférieures à la LOQ pour le reste des échantillons (données non représentées).

3.2.3 Occurrence des contaminants dans le bas estuaire

37% des micropolluants ciblées ont été détectés dans les sites avals (Tableau 3.1). L'échantillonnage de la zone aval était uniquement constitué d'échantillons d'eau (labellisés de A à D). L'absence d'échantillon de

sédiment est en partie responsable de cette observation. Cette réduction du nombre de contaminants détectés peut aussi être mise en relation avec un effet d'atténuation des teneurs dans les eaux par les cycles de marée, le mélange avec les masses d'eaux marines, et le régime hydrologique à l'amont de l'estuaire.

La concentration totale des HAP (somme des 16 HAP prioritaires) atteint sa valeur maximale détectée, de 488 ng.L⁻¹, pour le site D en hiver (Figure 3.6A) pour les matrices eau et la teneur totale.

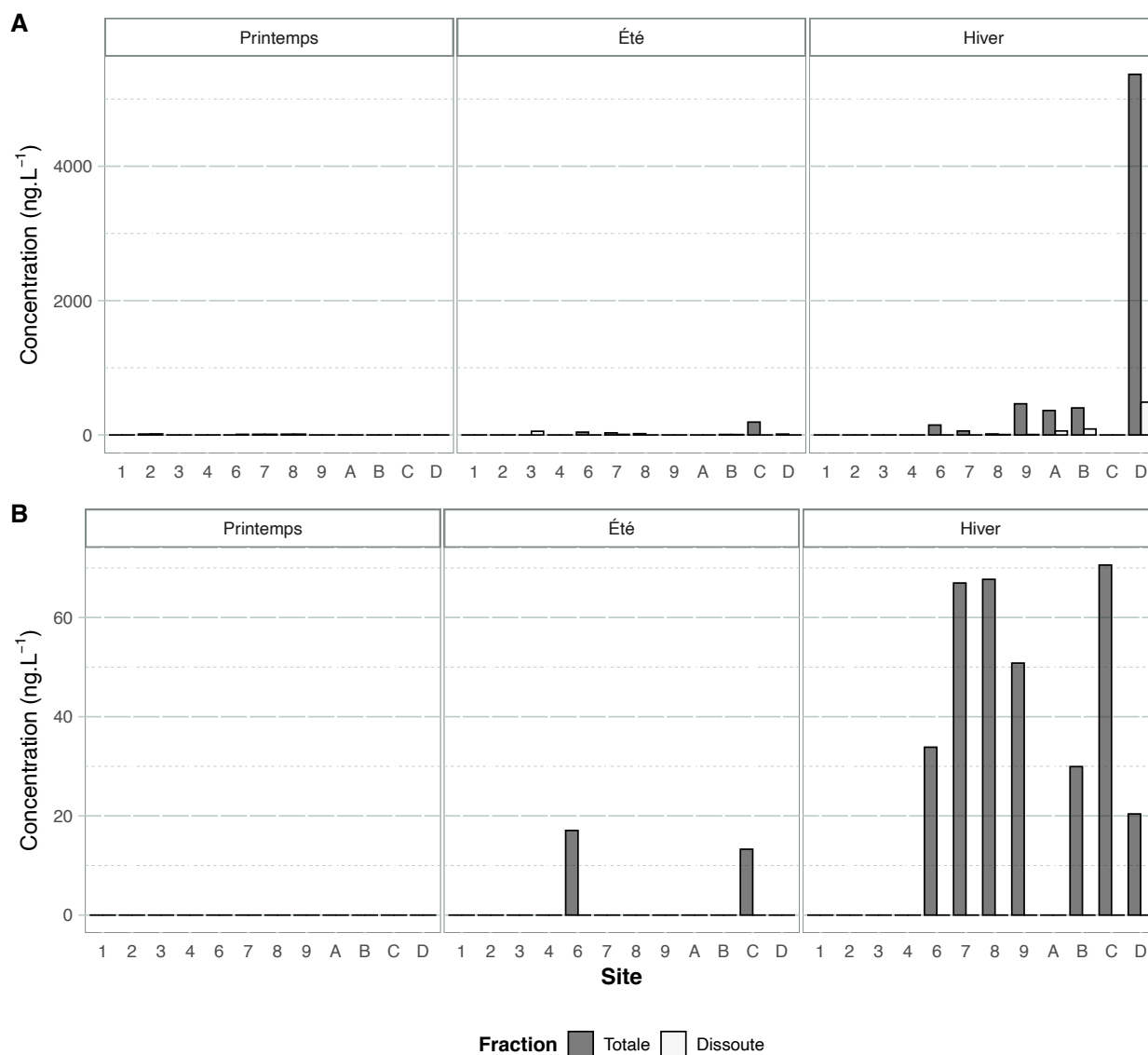


FIGURE 3.6 – Somme des concentrations (ng.L⁻¹) en HAP (A) et en PCB (B) dans l'eau de l'estuaire de l'Adour par site et par campagne.

La zone industrielle de la ville de Tarnos, située sur la rive droite de l'estuaire à proximité des sites C et D, avait déjà été identifiée comme une zone contaminée en HAP lors d'études précédentes sur l'Adour au début des années 2000 (BAREILLE et al., 2001). Plusieurs sites industriels dans cette zone sont référencés dans la

base de données GEORISQUES¹.

De même pour les PCB, qui sont détectés dans les eaux de l'estuaire de l'Adour en partie pour les sites B, C et D (pour la fraction totale). Le maximum de la somme en PCB est atteint en hiver pour le site C avec un somme égale à 70,6 ng.L⁻¹ (Figure 3.6B). Ces observations concordent aussi avec les études présentes réalisées sur l'estuaire de l'Adour, détectant une présence marquée de PCB autour de la zone de Tarnos (à proximité des sites C et D) pour la fraction particulaire (BAREILLE et al., 2001). Les HAP et PCB présentent des variabilités saisonnières particulières prononcées (Figure 3.6) dans le bas estuaire.

1. GEORISQUES (anciennement BASOL), une base de données du Ministère de la Transition écologique et solidaire. Disponible à l'adresse : <https://www.georisques.gouv.fr/risques/sites-et-sols-pollues/donnees>. Consulté en octobre 2021.

3.3 Variabilité saisonnière et facteurs influençant les micropolluants chimiques

Les observations précédentes nous ont amenées à observer une potentielle variabilité saisonnière (Tableau 3.1 et Figure 3.6; Tableau A3.1 en annexe). Des boxplots ont été réalisées afin de visualiser la gamme des concentrations obtenues par catégories de contaminants, par campagne et par matrice (Figure 3.7). Pour les matrices sédimentaires, on peut observer **une influence nette de la saison** d'échantillonnage sur les **métaux**, où les concentrations présentent des gammes de concentrations plus élevées pour la deuxième campagne d'échantillonnage au printemps. Pour les contaminants organiques dans les sédiments, on peut observer que les HAP et les pesticides présentent des gammes de concentrations supérieures en hiver qu'en été. Le comportement inverse peut être observé pour les PCB, les muscs synthétiques et les filtres UV (Figure 3.7A). Le manque de structure et de robustesse de ces observations peut être inféodés, au moins partiellement, aux données manquantes pour la campagne AD1 au printemps.

Il est important de garder en mémoire que cette variabilité peut être dû de manière générique à la saison mais aussi à certains paramètres fluctuants entre ces saisons et tout particulièrement au débit des eaux de l'estuaire (cf. Chapitre 2, Figure 2.4).

Pour les eaux, la saisonnalité de la distribution des micropolluants est plus marquée que pour les sédiments (Figure 3.7B et C). Le MMHg (organométaux) présente une variabilité saisonnière (surtout pour les eaux brutes). Les matrices eau brute et sédiment présentent les mêmes tendances entre les saisons que pour la fraction sédimentaire, avec des concentrations plus marquées en été (et donc à l'étiage) que pour les autres saisons. Ces résultats confortent des observations précédentes (STOICHEV et al., 2004).

La variabilité saisonnière est aussi relativement structurée pour les muscs synthétiques pour les eaux brutes et filtrées. Les alkylphénols et les filtres UV dans l'eau brute présentent d'ailleurs d'étonnants profils saisonniers entre les deux fractions aqueuses. Ainsi, les alkylphénols présentent des concentrations nettement supérieures au printemps que pour les autres saisons pour les matrices eaux filtrées. Tandis que pour l'eau brute, les concentrations en moyenne les plus faibles sont identifiées au printemps. Cette même opposition des tendances entre les deux fractions sont observés pour les filtres UV avec cette fois-ci des concentrations plus importantes en été pour l'eau brute et les plus faibles pour la fraction dissous.

Les HAP arborent le même profil dans l'eau que dans les sédiments, soit, des maximums de concentration mesurés pour la saison hivernale. Néanmoins, cette variabilité est peu structurée, elle reste associée à la présence de concentrations extrêmes, provenant de phénomènes très localisés. Cette observation peut aussi être aussi appliquées aux métaux (Figure 3.7B et C).

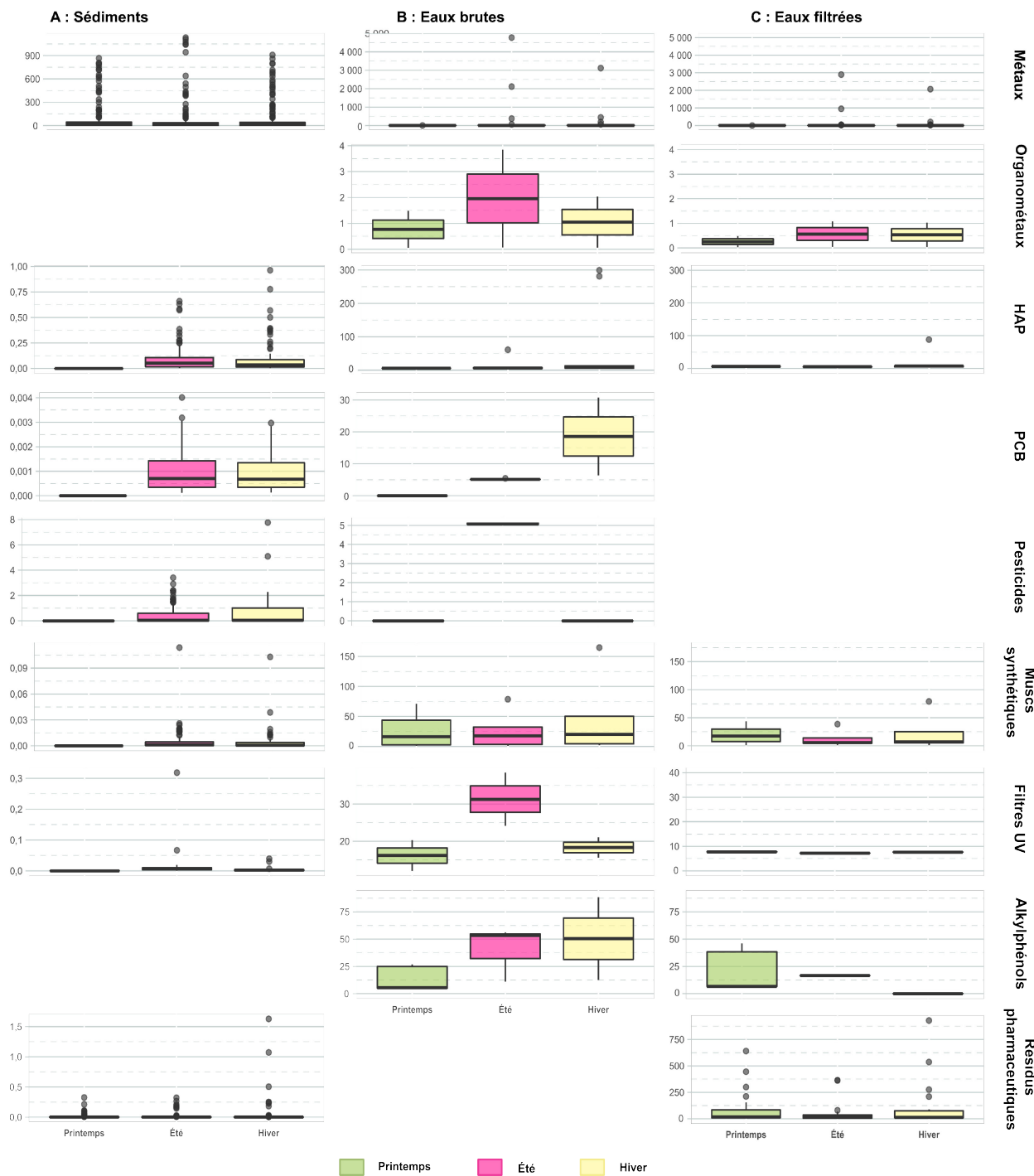


FIGURE 3.7 – Médiane et gamme des concentrations par catégorie par campagne dans les sédiments (A) et dans l'eau pour les fractions totale (B) ou dissoute (C).

Globalement, la variabilité saisonnalité par catégorie de contaminants chimiques est relativement faible, aucun profil saisonnier net n'est globalement observable. Cela est notamment le cas dans les sédiments en comparaison des matrices eaux qui sont hautement influencés par les valeurs extrêmes non comprises entre les quartiles q_1 et q_3 , correspondant respectivement 25 et 75% des données (représentés par les barres basse

et haute du boxplot).

Pour compléter ces observations et identifier les variables environnementales pouvant contribuer à la structuration des profils chimiques, des **ACP (Analyses en composantes principales)** ont été réalisées (Figures 3.8 et 3.9). Les différentes matrices ne correspondant pas à la même structure de données, les ACP sont réalisées indépendamment pour chacune. De plus, pour les sédiments, au vu du nombre de variables, les données des métaux et ceux des substances pharmaceutiques sont aussi analysées indépendamment (Figure 3.8 et 3.9). Pour rappel, les données des contaminants organiques ne sont pas disponibles pour l'intégralité des campagnes d'échantillonnage, ainsi, il a été décidé pour ne pas biaiser l'analyse des résultats de ne pas les inclure dans ces analyses multivariées.

Pour cette représentation graphique des ACP, la taille des sites est un indicateur de la qualité de la représentation pour les individus (ici, les sites); plus la longueur des flèches est importante, plus la qualité de la représentation de la variable est bonne. Les ACP sont des méthodes permettant de réduire le dimensionnement d'un jeu de donnée. Ces approches d'ordination permettent de synthétiser en deux dimensions, l'information portée par un tableau de plusieurs dizaines de paramètres. Deux graphiques peuvent être éditer à partir d'une ACP, un premier graphique illustrant les **individus**, soit dans notre cas de figure, les échantillons, et un second graphique illustrant les **variables**, soit ici, les concentrations en micropolluants chimiques ou la distribution de certains paramètres (pourcentage de la fraction de sédiments inférieure à 50 μm , le débits fluvial estimé, la latitude, etc.). L'adéquation entre les représentations graphiques et le tableau de donnée initial est fourni par la valeur des axes (en pourcentage). La somme de la valeur des deux premiers axes, nous indique pour chaque graphique le pourcentage d'inertie expliquée (soit le pourcentage de la variabilité du jeu initiale expliqué par la structuration des données).

Dans les eaux filtrées, **55,6%** de la variabilité du jeu de données est expliquée par la projection sur les deux premiers axes de l'ACP (Figure 3.9A). Pour les eaux brutes, cette valeur est de **60,9%** (Figure 3.9B). Pour les sédiments, ce pourcentage est respectivement de **55,6** et **45,4%** pour les métaux et les résidus pharmaceutiques (Figure 3.8). Ces valeurs nous indiquent que globalement la représentation est relativement juste. On s'intéresse tout d'abord au positionnement des échantillons entre eux. Chaque saison est représentée par une couleur différente, on peut remarquer qu'entre les différentes représentations, la structure des échantillons est bien distincte.

C'est pour l'eau brute, que l'on peut observer la plus nette structuration en fonction de la saison/ou campagne d'échantillonnage (Figure 3.9B1). Le deuxième axe de l'ACP sépare graduellement les prélèvements réalisés en hiver, puis ceux réalisés en été et au printemps (Figure 3.9B2). Cette évolution le long du deuxième axe semble être essentiellement influencé par le débits fluvial en hiver et la salinité au printemps (les échantillons collectés au printemps présentaient effectivement une salinité supérieure; dûe en grande partie au faible débit amont et à certains décalages dans les heures de prélèvements; cf. Annexes, figure A2.1A).

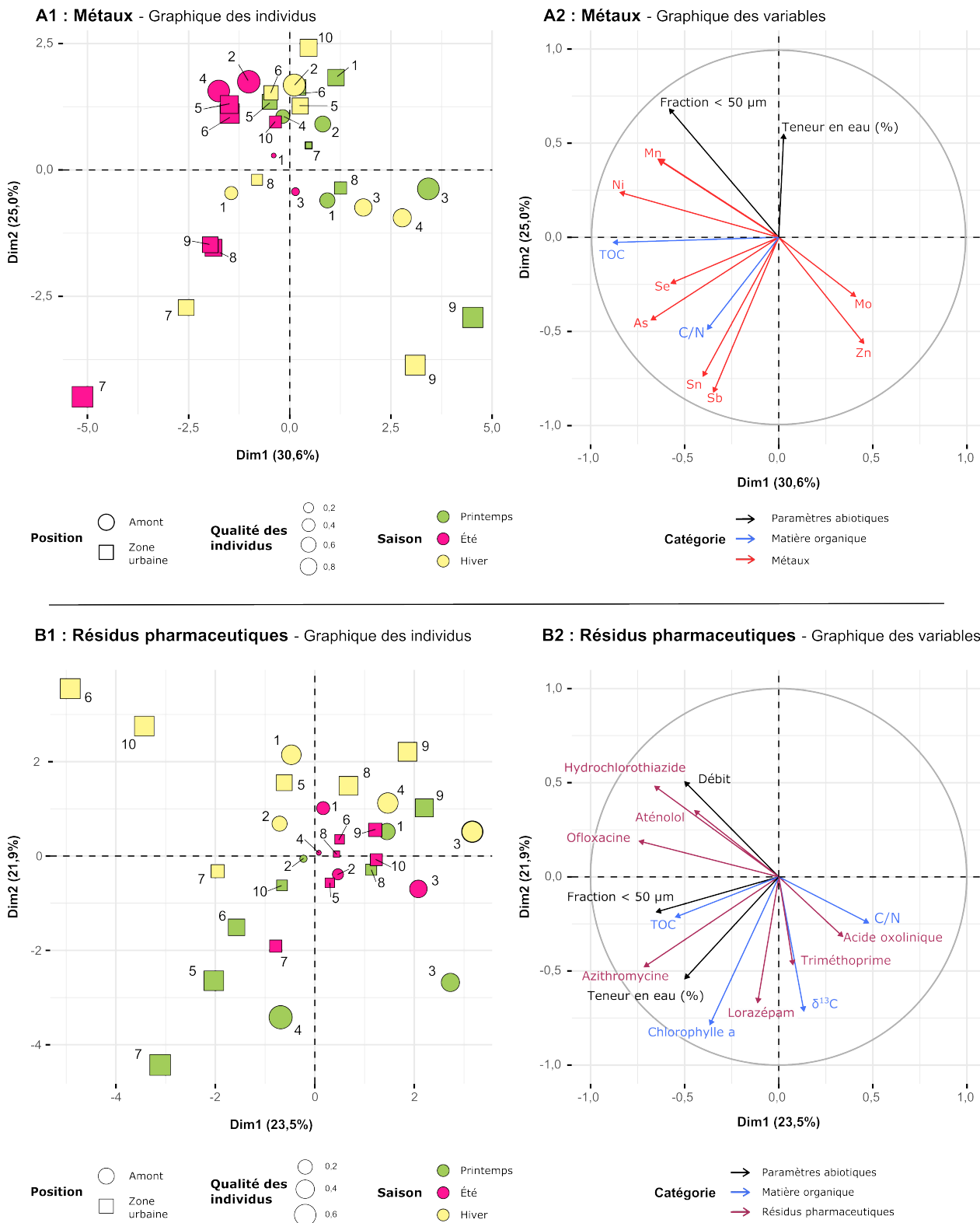


FIGURE 3.8 – ACP des micropolluants dans les **sédiments** de l'estuaire de l'Adour. Les variables indiquées par des abréviations correspondent à : l'antimoine (Sb), l'arsenic (As), l'étain (Sn), le nickel (Ni), le manganèse (Mn), le molybdène (Mo), le sélénium (Se), le zinc (Zn), TOC (pourcentage de carbone organique dans les sédiments), $\delta^{13}C$ (rapport des isotopes stables du carbone : $^{13}C/^{12}C$) et C/N (rapport carbone/azote) sont des signatures des sources de la MO (matière organique), ils permettent de discriminer les sources de la MO et la fraction < 50 μm correspond à la somme des pourcentages de la distribution granulométrique des classes de taille inférieures à 50 μm , soit l'argile et le limon. Les métaux sont normalisés par la concentration en thorium. Les métaux et la fraction < 50 μm (indicateur de la granulométrie) correspondent à la moyenne des triplicats par sites.

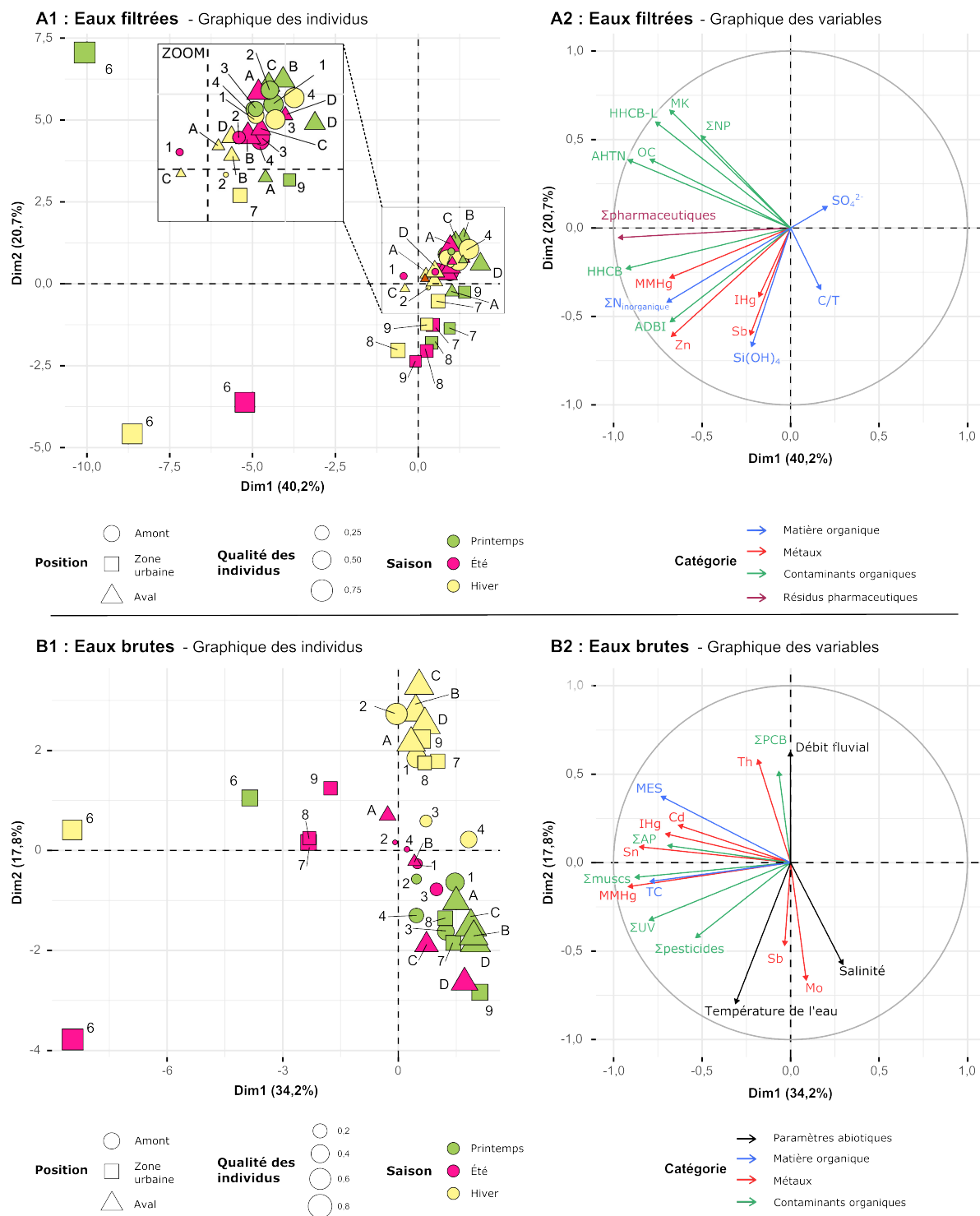


FIGURE 3.9 – ACP des micropolluants dans les **eaux** de l'estuaire de l'Adour. Les variables indiquées par des abréviations correspondent à : l'antimoine (Sb), le cadmium (Cd), l'étain (Sn), le monométhylmercure (MMHg), le mercure inorganique (IHg), le molybdène (Mo), le thorium (Th), le zinc (Zn), la somme en polychlorobiphényles (Σ PCB), le célestolide (ADBI) le tonalide (AHTN), le galaxolide (HHCB), le galaxolide lactone (HHCB-L), le musc cétone (MK), octocrylène (OC), la somme en muscs (Σ muscs), la somme en pesticides (Σ pesticides), la somme des nonylphénols (Σ NP) soit la somme du nonylphénol (NP), du nonylphénol monoéthoxylé (NPEO1) et du nonylphénol diéthoxylé (NPEO2), la somme en alkylphénols (Σ AP), la somme en filtres UV (Σ UV), la somme des résidus pharmaceutiques (Σ pharmaceutiques), la concentration en matière en suspension (MES), la concentration en carbone total (TC), la somme de l'azote inorganique (Σ $N_{inorganique}$ correspondant à la somme des nitrates (NO_3^-), des nitrites (NO_2^-) et des ammoniums (NH_4^+), la silice dissoute ($Si(OH)_4$), les sulfates (SO_4^{2-}), le rapport C/T, un indice de la fluorescence 2D de la matière organique dissoute chromophorique (CDOM). Pour ces analyses, les concentrations sont brutes (non normalisées et non moyennées par site).

Inversement, aucune structuration des sites en fonction de la saison n'est observable pour les eaux filtrées (Figure 3.9A1). Pour les sédiments, la structuration des sites en fonction des saisons est aussi très peu visible (Figure 3.8A1), surtout pour les métaux. Pour les résidus pharmaceutiques, le deuxième axe tend légèrement à distinguer le long d'un gradient moyennement net les échantillons hiver, puis estivaux et printanniers (Figure 3.8A2).

Les ACP peuvent aussi illustrer d'autres structuration. Elles peuvent être plus influencées par la composition de certains sites, bien plus que la saison.

Pour les sédiments, c'est le **site 7** et dans une moindre mesure le **site 9** (au printemps et en hiver) qui pour les métaux influencent la structuration des échantillons (Figure 3.8A1). Pour les matrices aqueuses, la même observation peut être faite avec le **site 6**. Ce site est séparé des autres sur le premier axe des ACP pour la teneur totale et dissoute (Figure 3.9A1 et 3.9A2). La contribution de ces sites à l'ACP est importante (visible par la Qualité des individus soit la taille des points). L'ensemble de ces observations sont à mettre en lien avec les profils de contaminants observés précédemment. Les sites 6 et 7 sont généralement marqués par les concentrations les plus élevées en contaminants. Ce sont ces sites qui vont influencer la structuration des échantillons.

On peut remarquer sur le graphique des variables que ces sites sont aussi associés à certains contaminants. Pour les sédiments, le site 7 est associé l'As, l'Sn, l'Sb ou encore le rapport C/N; le site 9 est associé au Zn ou au Mo (Figure 3.8A); le site 6 est associé lui à l'hydrochlorothiazide et l'aténolol. La logique est la même pour les eaux, où, il s'agit par exemple de l'AHTN, l'OC, l'ADBI, le MMHg ou encore la somme des résidus pharmaceutiques (\sum pharmaceutiques) ou celle de l'azote inorganique ($\sum N_{\text{inorganique}}$) pour la fraction dissoute (Figure 3.9A) et le Sn, l'IHg, le MMHg, le Cd, la somme des muscs (\sum muscs), ou encore l'Sb pour la fraction totale (Figure 3.9B).

Ainsi, on peut conclure, que les concentrations en micropolluants ne présentent pas une claire structuration saisonnière. La variabilité saisonnière des micropolluants n'est pas nettement observés ici puisque les concentrations sont bien plus influencées par les profils de contamination de certains sites. A l'échelle de l'estuaire de l'Adour et de la cadre de notre échantillonnage, la dynamique des micropolluants est associées plus fortement à une variabilité locale, voir un effet de site d'échantillonnage, en lien avec les différentes activités et les rejets contaminés le long de l'estuaire.

3.4 Synthèse des données et sélection des variables prédictives

Bien que fortement instructif, les profils de contaminants des sédiments et des eaux de l'estuaire présentent une claire hétérogénéité. Plus de 139 variables (contaminants) ont été mesurées par échantillon, à cela s'ajoute d'autres paramètres comme la caractérisation de la matière organique ou les paramètres abiotiques (température, débit fluvial, etc). Chaque variable augmente la dimension de l'étude, il est nécessaire de les filtrer et synthétiser avant d'extrapoler leur influence sur les communautés microbiennes. Le premier niveau de filtration est relativement simple, il s'agit de se débarrasser des variables/contaminants non présents (p. ex. les contaminants dont les concentrations sont toujours inférieures à la limite de détection) ou variant peu. Ces variables apportent peu ou pas d'informations et interfèrent avec la variance du jeu de données.

Dans un second temps, il est nécessaire de filtrer les **variables colinéaires**. Ces variables colinéaires sont des variables corrélées entre elles. La multicollinéarité sera source de problèmes si l'on tente de les employer. Elles risquent de modifier la variance des coefficients de régression, rendant ainsi ces coefficients instables et empêchant l'interprétation. Pour se débarrasser de ces variables, il faut interpréter les coefficients de corrélation entre elles et supprimer une partie des variables du jeu de donnée. La figure 3.10 illustre les coefficients de corrélation obtenu pour les **métaux dans les sédiments**, la corrélation entre deux variables est indiquée par la taille des sphères, plus la sphère est grande, plus la corrélation est importante. La couleur des sphères indique elle si la corrélation est positive (en bleu) ou négative (rouge).

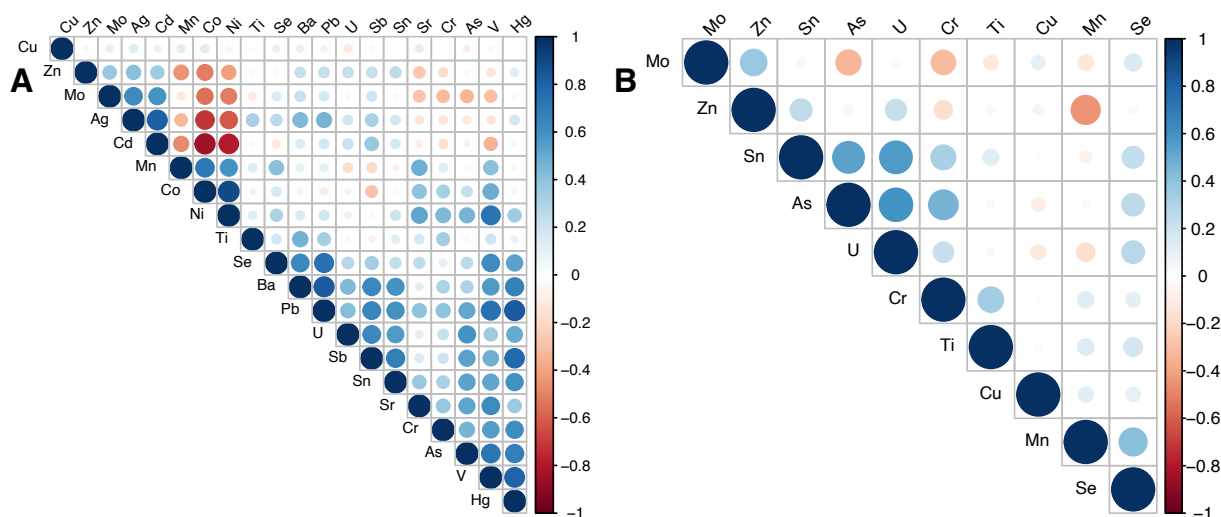


FIGURE 3.10 – Matrice de corrélation de Pearson des métaux corrigés par les concentrations en thorium (Th) dans les sédiments, avant (A) et après suppression des variables colinéaires (B).

D'autres méthodes existent pour la réduction de variable, comme l'emploi d'indice de contamination. Ces indices existent surtout pour les matrices sédimentaires. Leur avantage est que généralement, ils globalisent

autour de valeur simple une contamination multiple. Ils reposent fréquemment sur l'emploi de la valeur limite au-dessus de laquelle la contamination est vue comme impactant l'écosystème. Nous nous sommes ici focalisés sur l'emploi d'un d'entre eux, le **ERL/ERM** (LONG et al., 1995). Les valeurs seuils **ERL/ERM** ont été défini empiriquement à partir de sédiment marin et estuarien, et ils permettent d'estimer à partir d'une concentration en contaminant si ce dernier aura ou non un effet sur les organismes (LONG et al., 1995 ; KOWALSKA et al., 2018). D'ailleurs, **ERL/ERM** correspondent respectivement à *Effect Range Low* et *Effect Range Median*, soit les niveaux concentrations **rarement** ($< \text{ERL}$), **occasionnellement** (compris **entre ERL et ERM**) et **fréquemment** associées à des effets toxiques ($> \text{ERM}$). Pour information, ces valeurs guides seuils seront de nouveau employés un peu tard dans ce chapitre.

Ce couple de valeur seuil prend en compte un nombre limité de contaminants qui appartiennent soit aux ETM (As, Cd, etc.) soit aux HAP. Ils reposent sur le calcul du pourcentage d'échantillon présentant une valeur supérieure à la valeur guide indiquée pour l'ERL et celle pour l'ERM. A partir de ces pourcentages, le coefficient **m-ERM-Q** (LONG et al., 1998 ; KOWALSKA et al., 2018) est calculé en suivant :

$$m - \text{ERM} - Q = \frac{\sum_{i=1}^n (C_i / \text{ERM}_i)}{n} \quad (3.1)$$

Dans le cadre de cette étude, les valeurs de dépassement des ERL et ERM sont détaillés dans le tableau 3.2 et les valeurs correspondantes du m-ERM-Q sont illustrée par la figure 3.11.

TABLEAU 3.2 – Caractérisation des contaminants disponibles dans les sédiments de surface de l'estuaire de l'Adour avec les ERL/ERM.

Elément chimique	Gamme des concentration (moyenne) in ug.g ⁻¹	ERL	ERM	Pourcentage d'échantillons < ERL	Pourcentage d'échantillons compris entre ERL & ERM	Pourcentage d'échantillons > ERM
Ag	< 0,20 - 3,0 (1,2)	1,0	3,7	50	50	0
As	6,6 - 19 (13)	8,2	70	10	90	0
Cd	0,050 - 2,7 (0,92)	1,2	9,6	73,3	26,7	0
Co	1,9 - 16 (11)	-	-	-	-	-
Cr	3,3 - 61 (30)	81	370	100	0	0
Cu	18,9 - 212 (44,5)	34	270	53,3	43,3	3,3
Hg	0,032 - 0,17 (0,08)	0,15	0,71	96,7	3,3	0
Mn	176 - 1 130 (660)	-	-	-	-	-
Mo	0,13 - 45 (12)	-	-	-	-	-
Ni	< 0,20 - 33 (22)	20,9	51,6	40	60	0
Pb	18 - 91 (36)	46,7	218	90	10	0
Sb	0,18 - 3,2 (0,82)	-	-	-	-	-
Se	< 0,20 - 5,8 (2,3)	-	-	-	-	-
Sn	0,68 - 14 (2,9)	-	-	-	-	-
Ti	24,6 - 805 (216)	-	-	-	-	-
U	0,31 - 0,87 (0,62)	-	-	-	-	-
Zn	65,7 - 799 (366)	150	410	10	43,3	46,7

Le m-ERM-Q nous donne un état de santé globalement de l'estuaire. Dans notre cas de figure pour toutes

les campagnes, il est entre 0 et 0,5, ce qui indique que pour l'intégralité de nos sites sont classés parmi des sites présentant un niveau de priorité de **moyen à faible**, voire **faible**.

Dans le cadre de cette thèse, ces deux approches (étude de la corrélation/colinéarité et ERL/ERM) seront employées dans le **chapitre suivant** afin de réduire le nombre de variable et d'identifier les variables prédictives.

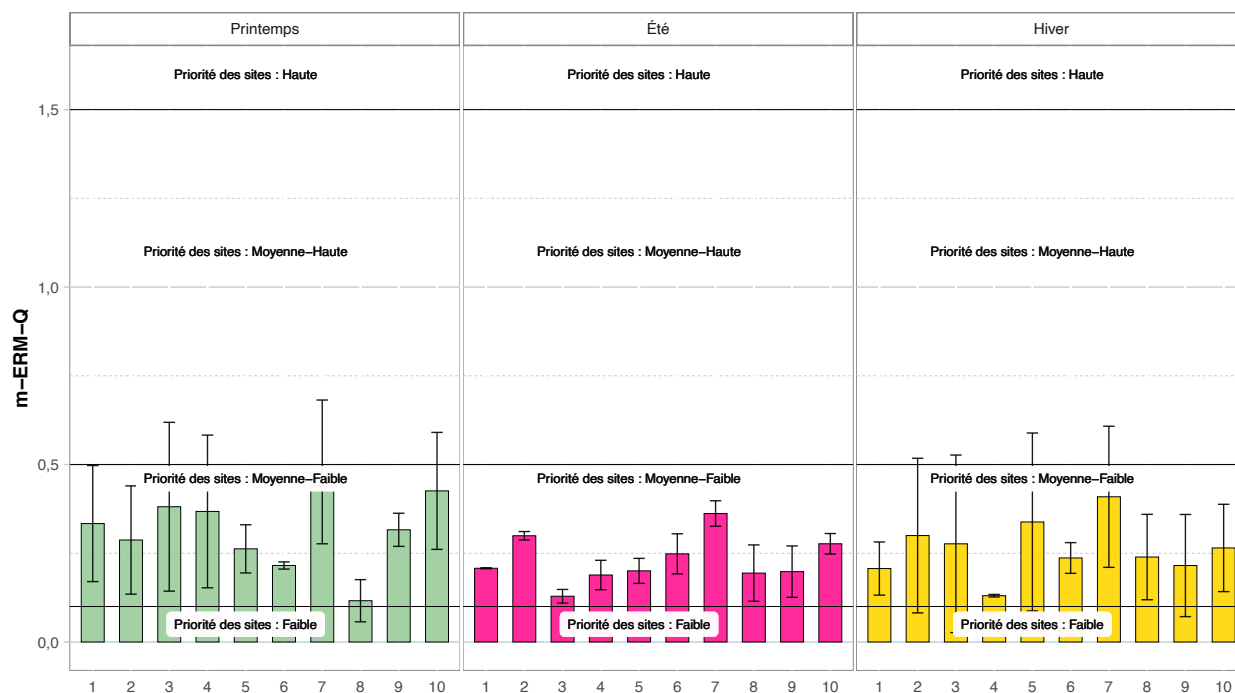


FIGURE 3.11 – Valeurs du **m-ERM-Q** obtenues pour les sédiments de l'estuaire de l'Adour.

3.5 Conclusion

A quelques rares exceptions près, l'intégralité des micropolluants recherchés dans l'estuaire de l'Adour ont été quantifiés au moins à une reprise dans l'ensemble des échantillons. On a pu observer une première distinction entre les différentes matrices étudiées. Les sédiments semblent présenter un nombre supérieur de micropolluant que les eaux, ceci renforce les différentes observations réalisées sur les capacités **intégratrices** des matrices sédimentaires (ZHANG et al., 2016 ; BRANCHET et al., 2021). Les fréquences de quantification des métaux et des résidus pharmaceutiques se sont avérées très élevés dans les sédiments. Ce qui est intéressant, notamment pour les résidus pharmaceutiques qui sont encore actuellement relativement moins étudiés dans cette matrice. Rappelons que les sédiments peuvent être des sources de **contamination secondaire** pour l'écosystème aqueux adjacents, ce relargage a notamment lieu lors de la variation de paramètres environnementaux tels que le pH et la salinité (LIANG et al., 2013). Or, la salinité varie quotidiennement et amplement en milieu estuarien (GAW et al., 2014 ; FABBRI & FRANZELLITTI, 2016).

Le suivi de contaminants émergents dans les sédiments tels que les résidus pharmaceutiques semblent être très important pour un bon suivi de l'état de santé des écosystèmes, d'autant plus pour des écosystèmes aussi hétérogènes que les estuaires.

Les matrices se distinguent par leur profil de contamination. Les sédiments présentent des profils de contamination relativement hétérogènes. La saison influence peu les profils de contaminations. La position semble, elle, jouer un rôle plus marqué au vu des concentrations et des fréquences de quantification relativement plus importantes dans la zone urbaine qu'à l'amont ou l'aval. Parmi ces sites situés dans la zone urbaine, on a pu remarquer que les **site 7** (situé à proximité du Maharin, un effluent urbain) et **9** (site à proximité de l'effluent de la STEU de S^t Bernard) semblent se distinguer des autres. Pour les eaux, le profil de contamination est plus structuré. La fréquence ainsi que les maximums de concentrations pour de nombreux micropolluants dont des micropolluants émergents ont pu être observés à proximité des **STEU** et surtout celle de **S^t Frédéric** situé à Bayonne (**site 6**). Laissant sous-entendre le rôle prépondérant que jouent les STEU dans l'entrée de contaminants dans les écosystèmes.

Finalement, bien que très ponctuellement, les concentrations mesurées dans les sédiments de l'estuaire de l'Adour soient comprises entre l'ERL et l'ERM, on peut dire les concentrations en micropolluants dans les sédiments soient relativement peu préoccupant. Ces observations sont confortées par les valeurs du **m-ERM-Q** indiquant des niveaux de priorité de **moyen à faible**, voire **faible**. Néanmoins, des **concentrations importantes** en divers micropolluants émergents (HHCB, HHCB-lactone, l'oxazépam, l'aténolol, etc.) ont été retrouvés dans les **eaux** et de nouveau pour le site 6, la STEU de S^t-Frédéric. Bien que ces concentrations semblent s'atténuer sur le reste de l'estuaire, l'influence des micropolluants sur les communautés microbiennes de ce site peut être suspecter.

L'ensemble de ce profil de contamination sera employés par la suite au cours l'étude des communautés

microbiennes colonisant les sédiments et les eaux de l'estuaire de l'Adour, dans le but d'identifier, d'une part les **micropolluants influençant ces communautés** et d'autre part d'éventuels **microorganismes (genres ou ASV) pouvant être indicateurs** de la présence de micropolluant.

Chapitre 4

Composition et structure des communautés microbiennes dans les sédiments de l'estuaire de l'Adour

4.1 Introduction

Dans le chapitre précédent, nous nous sommes intéressés à la dynamique des micropolluants au sein des sédiments et de la phase aqueuse de l'estuaire de l'Adour. On a pu observer que ces deux compartiments sont caractérisés par une composition et des concentrations bien distinctes en multiples micropolluants. L'étude de la composition et structuration des communautés microbiennes et l'impact des micropolluants sera réalisés en séparant les sédiments de la phase aqueuse.

Dans cette première partie nous nous focaliserons uniquement sur le compartiment sédimentaire. Il est important de rappeler qu'une partie des données (campagne AD1 - Printemps) ne sont pour l'heure pas encore disponible concernant l'analyses des contaminants organiques soit les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les polychlorobiphényles (PCB), les pesticides organochlorés, les muscs synthétiques, les filtres UV et les alkylphénols dans les sédiments. Ainsi, ces analyses n'ont pas été prises en compte dans ce chapitre.

Les outils précédemment cités permettant de synthétiser et sélectionner les variables les plus pertinentes ont été employés ici afin de réduire et sélectionner les variables environnementales qui seront décrites ici. On aboutit à **28 variables environnementales** mises en relation avec la composition et la structure des communautés microbiennes. Dans le but d'identifier les paramètres les plus **impactants**, différentes approches statistiques sont déployées, parmi celles-ci, nous pouvons citer la PERMANOVA ou la CCA.

Autrement, pour information, la version de la base de données SILVA SSU employée pour l'assignation taxonomique est la **138** distribuée en décembre 2019. Cette version de la base de données a intégrée différentes modifications de la nomenclature précédemment proposée (OREN et al., 2015; WHITMAN et al., 2018). A titre d'exemple, les *Bacteroidetes* ont été renommées *Bacteroidia*. Ce chapitre intégrera ces modifications. Ces travaux sont présentés sous la forme d'un article scientifique qui sera soumis pour publication très prochainement.

4.2 Article: *Microbial community structure in estuarine sediments exposed to geochemical gradients and micropollutants*

Articles en cours de soumission à *Science of the Total Environment*.

1 Microbial community structure in estuarine sediments exposed to
2 geochemical gradients and micropollutants

3 Sandrine Veloso^{a, *}, David Amouroux^a, Laurent Lanceleur^b, Cristiana Cravo Laureau^a,
4 Mathilde Monperrus^b, Jonathan Deborde^b, Robert Duran^{a,*}

5 ^a*Université de Pau et des Pays de L'Adour, UMR5254, Hélio parc, 2 avenue Président Angot,*
6 *Pau, France*

7 ^b*Université de Pau et des Pays de L'Adour, 1 Allée Montaury, 64600 Anglet, France*

8 **ABSTRACT**

The fluctuation of environmental conditions drives the structure of microbial communities in estuaries, highly dynamic, rapidly changing ecosystems. Microorganisms inhabiting estuarine sediments play a key role in ecosystem functioning. They are well adapted to the changing conditions, also threaten by the presence of pollutants. In order to determine the environmental parameters driving the organisation of the microbial assemblages, we conducted a seasonal survey in ten stations located along the Adour Estuary (Bay of Biscay, SW France) using 16S rRNA gene Illumina sequencing. Microbial diversity data were combined with a set of chemical analyses targeting metals and pharmaceuticals. Microbial communities were largely dominated by *Proteobacteria* (41%) and *Bacteroidota* (32%), showing a strong organisation according to season, with an important shift in winter. Permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) revealed that the spatial organisation was the second level of partitioning, distinguishing microbial community composition according to three main areas (upstream, middle, and downstream estuary), showing the Adour River influence on the microbial communities along the Adour Estuary. PERMANOVA further indicated that the microbial community were influenced by the presence of multiple contamination, including metals (As, Cu, Mn, Sn, Ti, and Zn) and pharmaceuticals (atenolol, hydrochlorothiazide, oxolinic acid and trimethoprim). Network analysis revealed specific modules, organised around keystone taxa, linked to a pollutant type, providing information of paramount importance to understand the microbial ecology in estuarine ecosystems.

9 **keywords** : microbial community structure ; multi-contamination ; sequencing ; co-occurrence
10 network ; microbial ecology ; microbial diversity ; antibiotics

*. Corresponging Author

Email addresses : sandrine.veloso@univ-pau.fr (Sandrine Veloso), robert.duran@univ-pau.fr (Robert Duran)

11 HIGHLIGHTS

- 12 • Hot spots of contamination were identified within urban area in the Adour estuary
- 13 • The abundance of taxa was correlated with pollutant concentrations
- 14 • Key stone taxa organise microbial networks related to pollutants
- 15 • Such taxa like *Nitrospira* might correspond to ideal partner for the colonization and
- 16 helped establishing relationships in diverse conditions

17 4.2.1 Introduction

18 Estuaries are ecotones, transitional waters at the interface of freshwater and marine habitats.
19 They are described as highly productive areas providing ecosystem services such as nurseries
20 for many bird and fish species, regulation of nutrient flow and cycling, and recreational activi-
21 ties (BASSET et al., 2013; KENNISH, 2002). They are highly sensitive environments showing
22 important fluctuations of environmental parameters, including salinity, temperature, and
23 nutrient concentrations. Estuaries have been considered as naturally stressed environments
24 (ELLIOTT & QUINTINO, 2007), further threatened by various contaminants released human
25 activities. Among the contaminants, metals and pharmaceuticals are of primary concern
26 because they are biologically active compounds threatening aquatic biota, ecosystems and
27 even human health (FABBRI & FRANZELLITTI, 2016). These compounds are ubiquitous,
28 being detected in various estuarine compartments, including surface water (AMINOT et al.,
29 2016; OBIMAKINDE et al., 2017), effluent from wastewater treatment plants (LI et al., 2016),
30 sediments (SHI et al., 2014), and aquatic organisms (HE et al., 2019). Microorganisms play
31 a crucial role in numerous environmental processes and functions, being involved in carbon,
32 nitrogen, phosphorus cycles (BAUER et al., 2013; DAMASHEK & FRANCIS, 2018; WATSON

33 et al., 2018). In estuarine sediments, microorganisms are highly diverse with complex or-
34 ganisation, representing the main biotic compartment (LOZUPONE & KNIGHT, 2007; YI
35 et al., 2020). The microbial communities are sensitive to environmental variations such as
36 temperature salinity, and the presence of micropollutants (JEANBILLE et al., 2016; LELOUP
37 et al., 2005; LOZUPONE & KNIGHT, 2007; RAMOND et al., 2008; SUN et al., 2012). Hence,
38 in ecosystems as much fluctuating than estuaries, the shift in microbial community struc-
39 turation are likely to be observed in response to the input of metals and pharmaceuticals.
40 The presence of pollutants, both organic and inorganic, has been shown to influence the
41 organisation of microbial communities in aquatic environments (BORDENAVE et al., 2004;
42 CRAVO-LAUREAU et al., 2011; DURAN et al., 2015; VERCRAENE-EAIRMAL et al., 2010).
43 It is thus of paramount importance to understand how the presence of pollutants modify
44 the microbial community structure in order to identify key microorganisms around which
45 microbial assemblages are organised in response to the presence of a pollutant. Network ana-
46 lysis allows to determine the interactions between microorganisms and between organisms
47 and their habitat (FUHRMAN & STEELE, 2008; WILLIAMS et al., 2014), revealing “specia-
48 lists” microorganisms specifically associated with a pollutant type and its biotic interactions
49 (DURAN et al., 2015; LLADÓ et al., 2015). The Adour Estuary (France) is located in the
50 Bay of Biscay (Atlantic Ocean) and provides contrasted areas that are under the influence
51 of different human activities, exhibiting different types and levels of pollution (STOICHEV
52 et al., 2004). The upper part of the Adour estuary is surrounded by agricultural activities,
53 while a urbain tissu composed by the cities of Bayonne, Biarritz and Anglet is installed
54 downstream the estuary and submit to industrial and urbain activities.

55 In this work, we hypothesize that the environmental factors influence the organisation of
56 microbial assemblage. Particularly the presence of pollutants which promotes the selection of

57 specific taxa that represent potential biomarkers of pollution, although estuarine environment
58 constitute highly mixing zones. The main objective of the study was thus to characterize the
59 relationships between the microbial communities, geochemical characteristics and pollutants
60 content (metals and pharmaceuticals), in estuarine sediments along ten stations located
61 in the Adour Estuary at different seasons, in order to estimate the significant parameters
62 driving the estuarine microbial communities. For this purpose, the metal and pharmaceutical
63 contents were determined, the microbial community structure and composition inhabiting
64 the estuarine sediments were described.

65 **4.2.2 Material and Methods**

66 **4.2.2.1 Study site and sample collection**

67 The Adour Estuary is located at the southwestern of France, extends along 308 km from the
68 Pyrenees to the Bay of Biscay (Atlantic North-East). This mesotidal estuary present a highly
69 heterogenous content river discharge, with $290 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ in annual mean and varying between
70 50 and $3,200 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Three sampling campaigns were performed : May 2017 (spring), Sep-
71 tember 2017 (summer), and from January to February 2018 (winter). Samples were collected
72 at low slack tide, the tidal coefficient ranged between 78 and 109. Estuarine sediments were
73 sampled in twelve sites located along the maximum salinity intrusion at the Adour River
74 (site 1) and the Nive River (site 3) to the estuarine mouth (site D) (Fig. 4.1), corresponding
75 to the middle and down estuary.

76 Along the estuarine zone, sites were selected in order to sample both a priori contami-
77 nated and upstream preserved sites according to area structuration and previous observa-
78 tions (STOICHEV et al., 2004; POINT, 2004; CAVALHEIRO et al., 2017). Triplicate sediment

79 samples from surface (0 - 1 cm) were collected in sealable plastics bags. Samples were trans-
80 ported in coolers at approximately 4°C and in the dark to the laboratory, within 2h.
81 Sealable plastics bags were then stored at -20°C, waiting for analysis. Simultaneously to
82 sample collection, an aliquot of each replicate were stored specifically in 2 mL Eppendorf
83 tubes prior to microbial analysis. These sampled sediments were directly shock-frozen in
84 liquid nitrogen carriers and stored at -80°C prior DNA extraction.

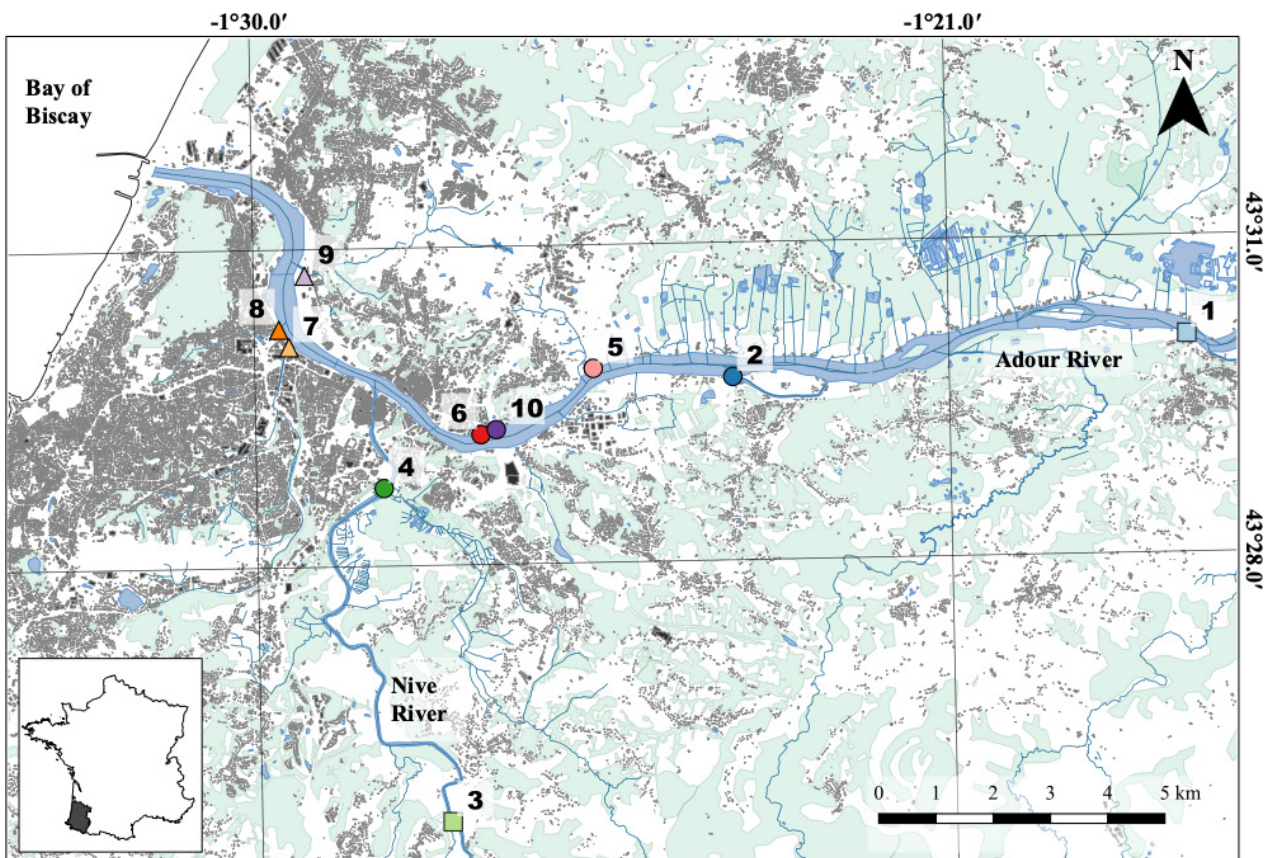


FIGURE 4.1 – Sampling area and site location along the Adour Estuary. Sites were identified by numbers and colors. Shapes indicated site position along the estuary, (■) upstream, (●) middle and (▲) downstream.

85 4.2.2.2 Geochemical characteristics

86 Sediments were freeze-dried in a freeze-dryer (VaCo2 - Zirbus, Germany). Dry sediment were
87 visually homogenized, plants, stone and other debris were handly removed, then grinded in
88 a planetary ball mill (PM 100 - RETSCH) and stored at -20°C. Prior to grinded step, an
89 aliquot of 1 g were collected for grain size distribution characterization with laser diffrac-
90 tion method. Sediments water contents (%WC) were obtained by measuring the weight loss
91 before and after drying at 60°C for 24h. TC (total carbon) contents were measured by ca-
92 talytic combustion on organic carbon automatic analyzer (SSM5000-A, Shimadzu, Japan).
93 TOC (total organic carbon) and TC (total carbon) contents were measured by catalytic
94 combustion on organic carbon automatic analyzer (SSM5000-A, Shimadzu, Japan). Organic
95 carbon isotope analysis ($\delta^{13}\text{C}$) were obtained by IRMS (isotope ratio mass spectrometry)
96 with Flash 2000 (ThermoFisher Scientific) and an Isoprime (GV Instruments). Chlorophyll
97 a were mesured in sediments by spetrophotometry according to LORENZEN, 1967 and AMI-
98 NOT & KÉROUEL, 2004. All concentrations were expressed in dry weight. River discharge
99 values were obtained from HYDRO database (<http://hydro.eaufrance.fr>).

100 4.2.2.3 Micropollutant characterization

101 Trace metals (Ag, As, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sn, Th, Ti, U, V, Zn) except
102 Hg were measured from 0.05 to 1 g sample of dry sediments after an acid digestion and
103 by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) Agilent 7500 series (Agilent,
104 USA). Briefly, 3 mL of HNO_3 (70%, Instra Analysed, J.T. Baker) and 1 mL of HCl (37%,
105 Ultrex, Fisher Scientific) were added to dried sediment samples. Sediments solutions were
106 heated on a hot plate at 85°C for 4h (DigiPREP, SCP Science). Then, 1 mL of hydrogen per-

107 oxide (30-32%, Optima, Fisher Chemical) was added drop by drop and solutions were heated
108 again at 85°C for 2h (DigiPREP, SCP Science). Final volumes were adjusted to 15 mL with
109 ultrapure water (MilliQ, Millipore). Solutions were centrifugated and the supernatants were
110 filtrated with 0.22 µm PTFE (Millipore) syringe filters. Filtrates were spiked with internal
111 standards (Bismuth, Bi). Samples were analyzed by ICP-MS using the external calibration
112 method with internal standard correction (Bi).

113 Quality of analyses was controlled with Standard Reference Materials (SRM 1944, National
114 Institut of Standards & Technology, USA). Total mercury (Hg) content was measured by
115 atomic absorption spectrophotometry (AAS) (COSTLEY et al., 2000) using Advanced Mer-
116 cury Analyzer (AMA-254, LECO). To avoid any grain size effect, trace metal concentrations
117 were normalized with thorium (Th) concentrations (LANCELEUR et al., 2011). For futher
118 analysis and stastics, average sampling triplicat by site were measured and used.

119 A total of 43 pharmaceuticals were measured in surface sediment by liquid chromatography
120 coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), including 7 NSAIDs (acetaminophen,
121 aspirin, niflumic acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen and phenazone), 22 antibiotics (am-
122 picillin, azithromycin, ciprofloxacin, clarithromycin, doxycycline, erythromycin, flumequine,
123 josamycin, metronidazole, norfloxacin, ofloxacin, oxolinic acid, piperacillin, rifampicin, roxi-
124 thromycin, spiramycin, sulfadiazine, sulfamethazine, sulfamethoxazole, tetracycline, trime-
125 thoprim and tylosin), 3 anxiolytics (lorazepam, nordazepam and oxazepam), 3 cardiovascular
126 drugs (atenolol, losartan and metoprolol), as well as an antiarrhythmic agent (amiodarone),
127 an anticancer drug (cyclophosphamide), one hormone (norethindrone), a diuretic (hydro-
128 chlorothiazide), a compound from fibrate group of medications (gemfibrozil), a diuretic and
129 carbonic anhydrase inhibitor (acetazolamide), a neuroleptic (carbamazepine) and caffeine.
130 Internal standard solutions were composed of carbamazepine-d10, atenolol d7, ciprofloxacin-

131 d8, norfloxacin-d5, ofloxacin-d3, diazepam-d5, nordazepam-d5 and ibuprofen-d3. All internal
132 standards were purchased from Sigma-Aldrich (France). Pharmaceuticals extraction in sedi-
133 ment was performed by coupling SIEDLEWICZ2 et al. (2016) solid extraction protocole and
134 liquid SPE pre-concentration protocol from Gros et al., (2017). Briefly, the extraction of
135 pharmaceuticals from surface sediments was processed by adding to 200 mg of dry sediments
136 spiked with 40 μL of internal standard solutions (at $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ in methanol), a mixture of 1
137 mL methanol (MeOH), 1 mL supersaturated aqueous ammonium chloride solution and 200
138 μL Na_2EDTA at $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Sigma Alrich, France). Samples were sonicated for 8 min and
139 centrifugated 5 min at 4,500 rpm. Supernatant were collected and transferred into 50 mL
140 polypropylen tubes. Sample volume were adjusted to 50 mL with ultrapure water (MilliQ,
141 Millipore). Solutions were loaded in Oasis HLB cartridges (60 mg, 3 cc) (Waters, USA) pre-
142 viously conditioned with 3 mL MeOH followed by 3 mL MeOH at $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. After loading
143 samples, cartridges were rinsed with 5 mL ultrapure water and dried at room temperature
144 for 20 min. Elution solvent was 5 mL MeOH at flow rate $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Samples were eva-
145 porated under a gentle air stream (TurboVap LV, Biotage, USA). Dried extracts were then
146 reconstituted in 1 mL MeOH:H₂O (MilliQ) (5:95, v:v) and stored at -20°C prior to analy-
147 sis by LC-MS/MS. An internal calibration with deuterated analogs was used to quantify
148 concentrations of target compounds. Two matrix-matched calibration curves was prepared
149 using 200 g of sediments with differents granulometry (sandy and silty) spiked with increa-
150 sing concentration of target pharmaceuticals ranging from 0 to $500 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Solvent blanks
151 (MeOH:H₂O, 5:95, v:v) and procedural blanks were prepared to evaluate system perfor-
152 mances and detection limits.

153 4.2.2.4 Microbial community composition

154 Total DNA was extracted from environmental samples (~500 mg of wet sediment) using
155 PowerSoil DNeasy (Qiagen) according to the manufacturer's instructions. The microbial
156 universal primers 515F-Y 5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3' (PARADA et al., 2016) and
157 926R 5'-CCGYCAATTYMTTTRAGTTT-3' (QUINCE et al., 2011) were used to amplified
158 V4-V5 hypervariable 16S rRNA gene regions. Triplicate PCR reaction mixtures containing 1
159 μL of DNA at $10 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, 2X AmpliTaq Gold DNA Polymerases (ThermoFisher Scientific),
160 0.5 M forward primer, 0.5 μM indexed reverse primer in a final reaction volume of 25 μL .
161 PCR amplification conditions were an initial denaturing step of 10 min at 95°C followed
162 by 35 cycles of 95°C for 30 s, 60°C for 30 s and 72°C for 45 s and then a final extantion
163 of 7 min at 72°C. Per sample, a pool of triplicate PCR reaction was sent to Genotoul
164 (INRA Toulouse, France) for sequencing process. Amplicon were sequenced using MiSeq
165 Illumina 2x 250 bp. Sequences were processed in R software (version 4.0.2) (R CORE TEAM,
166 2020). R package dada2 (version 1.16.0) was used to analyze and cleaned 16S rRNA gene
167 sequence reads and identified amplicon sequence variants (ASVs) (CALLAHAN et al., 2016a)
168 according to the default settings. The ASV identification was done using pseudo-pooling
169 sample strategy. The taxonomic assignment of ASVs was made using SILVA SSU (small
170 subunit) database (version 138) (QUAST et al., 2013) and IDTAXA (MURALI et al., 2018).
171 The treatment of ASV and taxonomic table were processed with R package phyloseq (version
172 1.32.0) following instruction from CALLAHAN et al. (2016b). After diversity analysis, within
173 ASV and taxonomic table, replicat were merged by mean by site.

174 4.2.2.5 Statistical analysis

175 All graphics and statistical analyses were processed using R software (R CORE TEAM, 2020).
176 PCA (Principal component analysis) were performed on thorium normalized data for metals
177 and For metals, PCA (Principal component analysis) were performed on thorium normalized
178 data and average triplicats.

179 NMDS (non-metric multidimensional scaling) were calculated using vegan package
180 (OKSANEN et al., 2020) based on Bray-Curtis dissimilarity. ANOSIM (Analysis of simila-
181 rity) were performed based on 999 permutation using vegan package. Both analysis were
182 carried out on ASV table whose replicat were merged (by mean by site). PERMANOVA
183 (permutational multivariate analysis of variance) based on 1,000 permutations using Bray-
184 Curtis matrices and vegan R package were used to estimate the relative contribution of
185 environmental variables. Within PERMANOVA, as described before, metals concentrations
186 were normalized by Th, pharmaceuticals and geochemical parameters weren't modified.
187 CCA (Canonical-correlation analysis) with 9,999 Monte Carlo permutation tests was
188 conducted with variables that present significative contribution on the PERMANOVA and
189 ASV table (merge by site) at the genus taxonomic level using vegan package.

190 4.2.2.6 Co-occurrence networks construction

191 Co-occurrence network was built from overall ASV profil (all campaign, all site) merge by
192 site, under MENAp (*Molecular Ecology Network Analyses pipeline*) using a RMT (random
193 matrix theory)-based method (DENG et al., 2012; ZHOU et al., 2011). Based on the relative
194 proportion of ASVs abundance and ASVs present in a minimum of 37% of all samples (all
195 campaigns included), networks were constructed using Pearson correlation matrix (ZHOU et

196 al., 2011). Within networks, modules, groups of nodes showing higher densities connections
197 within each group than between (NEWMAN, 2004), were identified by fast greedy modularity
198 optimization (CLAUSET et al., 2004; NEWMAN, 2004). Modules composed of a minimum
199 of 5 nodes were conserved in further analysis. Gephi 0.9.2 was used to visualize resulting
200 networks and modules (BASTIAN et al., 2009).

201 **4.2.3 Results and discussion**

202 **4.2.3.1 Geochemical parameters and contamination level**

203 The sampling sites on the Adour Estuary were located in i) a middle estuarine Urban area
204 and ii) an Upstream area under agricultural and fluvial influence. The sites exhibited ho-
205 mogenous geochemical patterns (Table S1). Although the geochemical parameters did not
206 show significant seasonal variations, carbon content (TC and POC) was higher in summer
207 (Table S1), this indicated than a major amount of the organic matter in the Adour estuary
208 came from primary production (KUBO & KANDA, 2017). Similarly, the PCA showed a dis-
209 tribution of samples according to season along the axis 1 (explain-ing 22% of the variation)
210 suggesting also seasonal variations (Fig. 4.2). Such contamination seasonal variability was in
211 accordance with previous studies in the Adour Estuary (STOICHEV et al., 2004), and other
212 estuaries (AMINOT et al., 2016; SHI et al., 2014). However, the high concentrations of an-
213 tibiotics found in winter (highest Adour River discharge in this study) was in contradiction
214 with previous studies showing lower concentration of pharmaceuticals (including antibiotics)
215 during high river discharge (AMINOT et al., 2016; LIU & WONG, 2013). Despite the seasonal
216 variability showing hotspot values (Fig. 4.2), the Adour Estuary was characterized by higher
217 contaminant concentrations in the middle or downstream estuarine Urban area while the

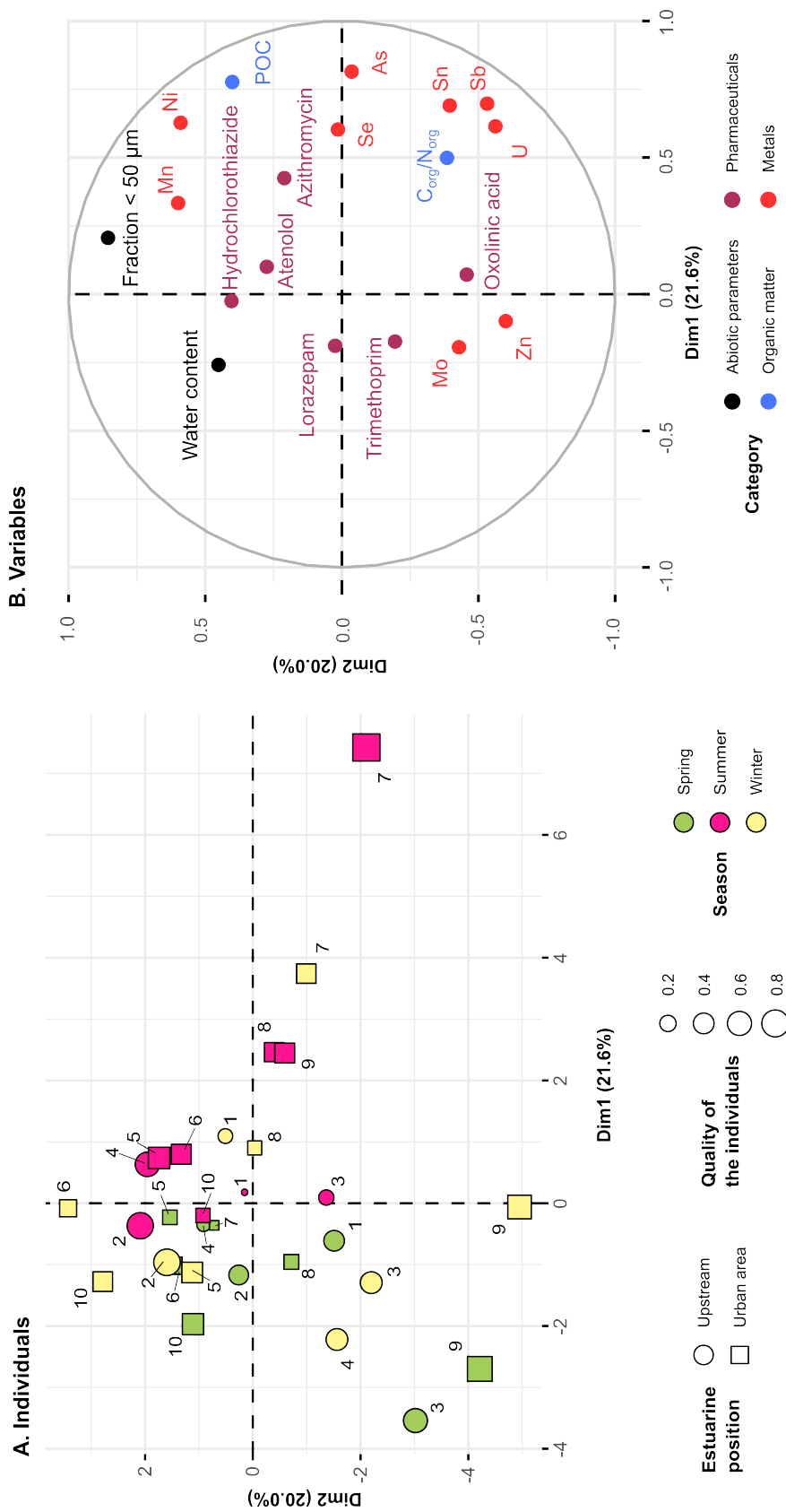


FIGURE 4.2 – Physico-chemical sites structuration. Principal component analysis (PCA) plot for sites (A), distinct by sampling season and site position, and variables, (B) including metals (red), pharmaceuticals (purple) and geochemical parameters (blue) concentrations and abiotic parameters values (black).

218 upstream area exhibited lower contaminant concentrations (Fig. 4.2; Tables S2 to S5). The
219 presence of contaminants and their content variability may exerts a selection pressure on
220 microorganisms, playing a crucial role in shaping the structure of microbial communities
221 (JACQUIOD et al., 2018; MISSON et al., 2016; WANG et al., 2021b).

222 4.2.3.2 Microbial community diversity and composition

223 The composition of microbial communities, determined by 16S rRNA sequencing, provided
224 16,288 ASVs (Amplicon Sequences Variants) coming from 1,629,171 reads (after filtration
225 and chimera removal). A mean of 1,954 ASVs \pm 502 (Chao1 index) per sample was obtained,
226 which was consistent with previous reports showing similar diversity in estuarine sediments
227 (YAN et al., 2018). Observed richness rarefaction curves showed a plateau (Fig. S1), sugges-
228 ting that the sequencing effort was sufficient to collect most of the diversity. The microbial
229 α -diversity (Simpson evenness) was homogenous among samples (Table S6), indicating that
230 the microbial diversity level was not affected by the presence of contaminants. It was surpris-
231 ing to observe such similar diversity indexes in sediments presenting different contaminants
232 types and contents since previous studies showed that the presence of pollutants affect (in-
233 crease or decrease) the microbial diversity (DURAN et al., 2015; JACQUIOD et al., 2018;
234 JOHNSTON & ROBERTS, 2009; LI et al., 2020). However, similar observations have been
235 reported when comparing contaminated and non contaminated sediments (BEN SALEM et
236 al., 2019; PAISSÉ et al., 2008). The legacy of microbial communities exposed to fluctuating
237 presence of contaminants combined with the coalescence of microbial communities, mixing
238 microbial communities along a continuum, may explain the homogenous microbial diversity
239 observed in the Adour Estuary as previously proposed in river and lake sediments (BEN
240 SALEM et al., 2019; YIN et al., 2015).

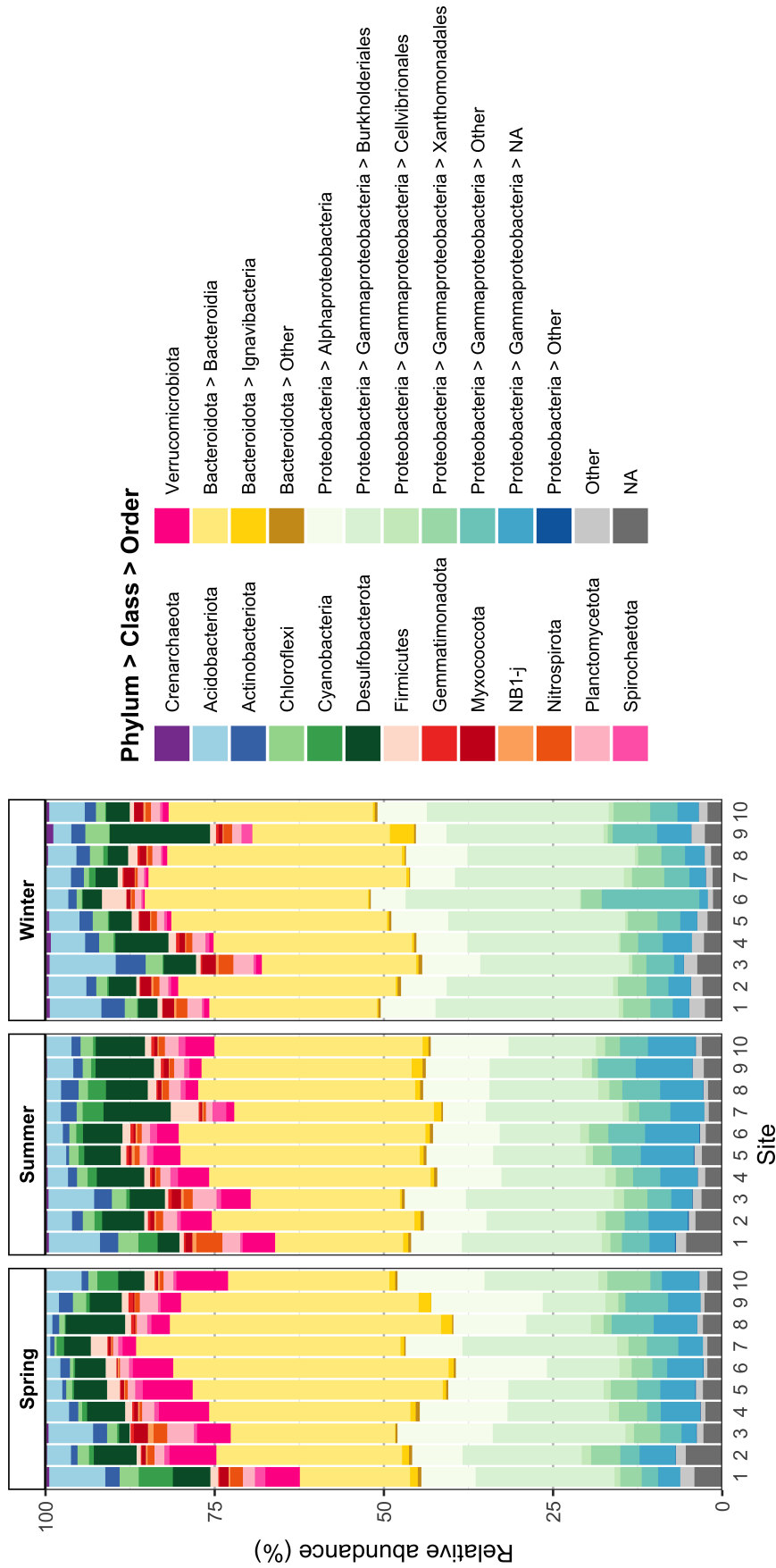


FIGURE 4.3 – **Microbial community composition.** Relative abundance (average of three replicates) of dominant microbial groups (phylum, class or order) observed by site and season in Adour Estuary sediment. NA, not assigned sequences ; Other, groups not assigned sequences and taxa with abundance below 0.2% for phylums and classes and 1% for orders.

241 After rarefaction step, there were in total 42 phyla observed in this study. More than 80% of
242 the relative abundance corresponded to two phyla : *Proteobacteria* ($41 \pm 3\%$) and *Bacteroi-*
243 *dota* ($31 \pm 6\%$) (mean \pm sd of all samples) (Fig. 4.3). The dominance of these two phyla is
244 consistent with the major groups found in estuarine environments (FORTUNATO & CRUMP,
245 2015; GUO et al., 2018; VIDAL-DURÀ et al., 2018), where they play a critical role in biogeo-
246 chemical cycles (XIA et al., 2013). *Proteobacteria* were dominated by *Gammaproteobacteria*
247 ($23 \pm 9\%$) and *Alphaproteobacteria* ($9 \pm 3\%$), the *Burkholderiales* order, historically affilia-
248 ted to *Betaproteobacteria* class (WAITE et al., 2020), dominating the *Gammaproteobacteria*
249 ($20 \pm 6\%$). Interestingly, the abundances of *Alphaproteobacteria* and *Burkholderiales* sho-
250 wed significant seasonal variability (pairwise wilcox test, p-value<0.05) with opposite trends.
251 From summer/spring to winter, corresponding to the intrusion of freshwater in the estuary
252 due to higher Adour River flow rate in winter, the abundance of *Alphaproteobacteria* decrea-
253 sed (from 11 to 7%) while that of *Burkholderiales* increased (from 16 to 25%). It is likely
254 that the variation of the abundance of these groups followed the river discharge, which is in
255 agreement with previous reports showing that *Burkholderiales* occur commonly in estuarine
256 and freshwater ecosystems (AYLAGAS et al., 2017; ROBERTO et al., 2018) while *Alphaproteo-*
257 *bacteria* have been identified as a major group in marine microbial communities (POMMIER
258 et al., 2007; ZINGER et al., 2011). The *Bacteroidetes* phylum, which members have been
259 identified to play a crucial role in the degradation of biopolymers (e.g. chitin, cellulose)
260 (FERNÁNDEZ-GÓMEZ et al., 2013; KIRCHMAN, 2002), was dominated by the *Bacteroidia*
261 class ($30 \pm 6\%$), especially by the *Flavobacteriales* order (Table S7). In accordance with
262 previous report showing the critical role of the *Flavobacterium* genus in the microbial loop
263 (detrital food web) (KISAND et al., 2002), the dominance of the *Flavobacterium* genus sug-
264 gested that the organic matter plays a key role in the organisation of microbial communities

265 in the Adour Estuary. Beside, several phyla were present in lower abundance in the bacterial
266 community, including *Deltaproteobacteria* (*Desulfobacterota*; [WAITE et al. (2020)]), ($5.5 \pm$
267 2.7%), *Acidobacteriota* ($4.2 \pm 2.2\%$), *Verrucomicrobiota* ($3.1 \pm 2.4\%$), *Actinobacteriota* (1.7
268 $\pm 0.9\%$), *Planctomycetota* ($1.7 \pm 0.8\%$), *Chloroflexi* ($1.6 \pm 0.8\%$), and *Firmicutes* ($1.2 \pm$
269 0.9%). Members of these phyla are commonly found in estuarine or freshwater environments
270 (FENG et al., 2009; GUO et al., 2018; VIDAL-DURÀ et al., 2018). The *Archaea* were found
271 at low abundance ($< 1\%$) showing also seasonal variation, particularly in the estuarine Ur-
272 ban area, being not detected in spring while showing the highest abundance (1%) in winter.
273 Despite such low abundance, it is worth to take into account *Archaea* since they are known
274 to play an important role in biogeochemical cycles, especially the nitrogen cycle, methanoge-
275 nesis and even metal resistance (WEBSTER et al., 2015). The low abundance of *Archaea* in
276 our study was in accordance with previous studies in similar ecosystems (KACI et al., 2016;
277 VIDAL-DURÀ et al., 2018). *Crenarchaeota*, *Halobacterota* and *Euryarchaeota*, were the main
278 phyla, *Crenarchaeota* representing the more abundant archaeal phylum ($> 0.2\%$; Fig. 4.3).
279 These archaeal phyla are usually observed in estuarine sediment (ABREU et al., 2001).

280 4.2.3.3 Spatial and seasonal variation in community structure

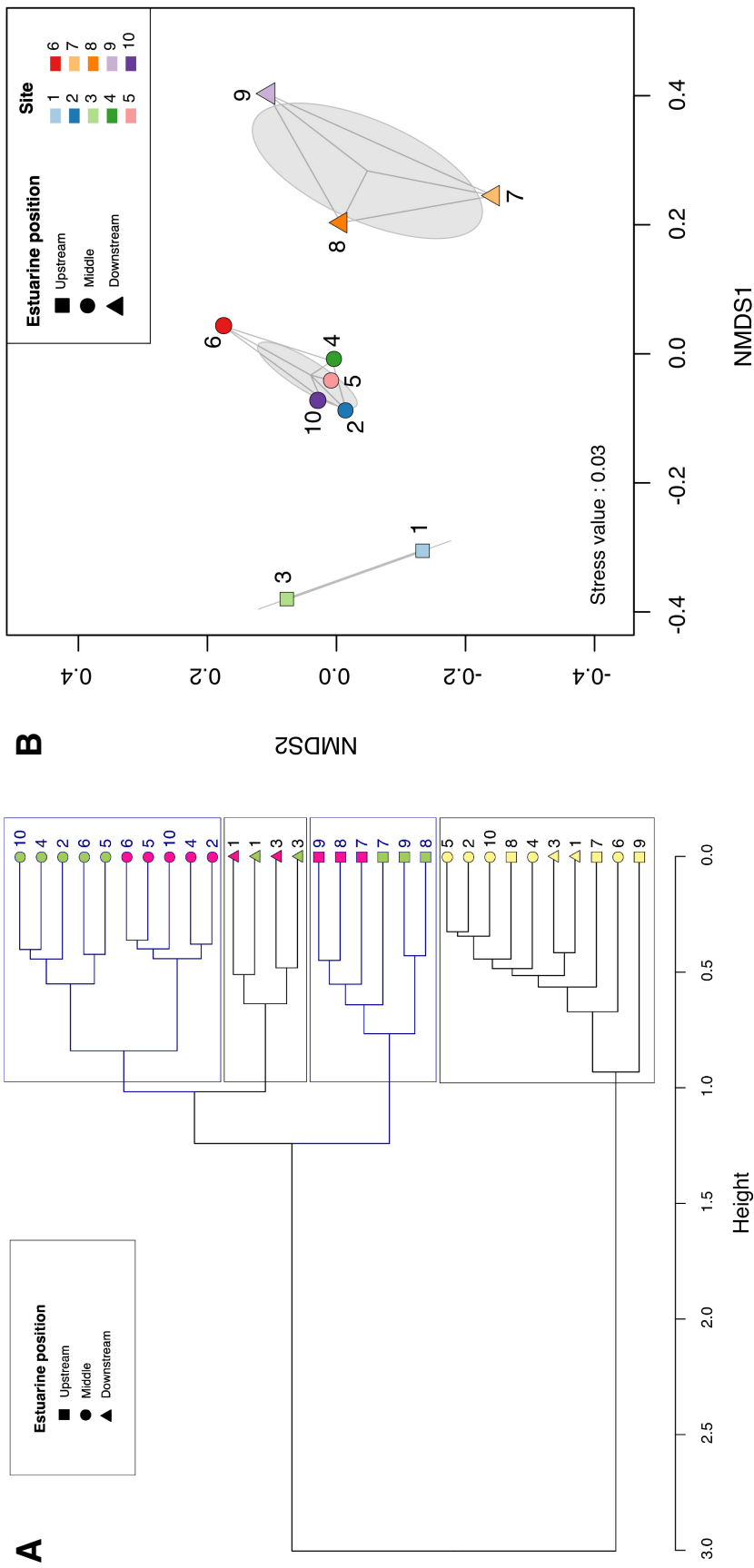


FIGURE 4.4 – Comparison of microbial community composition. A) Hierarchical clustering based on Bray-Curtis dissimilarity computed on ASVs composition using the Ward D2 linkage method. The analysis was performed on the average of three replicates. The four groups were determined according to the explained inertia (83% with four groups). The seasons are identified by colours : spring (green), summer (pink) and winter (yellow). B) NMDS showing k-means clusters, based on the Bray-Curtis distances with samples pooled by site (without taking account to the season).

281 The analysis of similarity (ANOSIM) showed that the microbial communities in the Adour
282 sediment were grouped according to season ($R=0.78$, $p\text{-value}=0.001$), further confirmed by
283 the hierarchical clustering (Fig. 4.4A) revealing that the microbial communities in winter
284 were separated from those of the other seasons (ANOSIM, $R=1$, $p\text{-value}=0.001$). These
285 results suggested that the microbial communities were influenced by seasonal parameters
286 such as temperature and Adour River discharge (Table S1). Nevertheless, differences between
287 microbial communities were also observed along the Adour Estuary (ANOSIM, $R=0.15$,
288 $p\text{-value}=0.028$), the NMDS analysis showing three clear clusters (Fig. 4.4B) : microbial
289 communities of upstream sites (1 and 3) being separated from those of the middle sites (2,
290 3, 4, 5, 6 and 10) and downstream sites (7, 8 and 9). Such observation was in accordance
291 with the level of contaminant concentrations observed along the Adour Estuary showing a
292 gradient of increasing pollutant concentration from upstream to downstream (Fig. 4.2 ; Table
293 S3 ; Table S5), but the clear separation of the most upstream sites 1 and 3 from the other
294 sites confirmed that they are under freshwater influence. It is likely that despite the microbial
295 communities suffer seasonal variations they are adapted to the physical-chemical parameters
296 and pollutant concentrations prevailing at each site, as observed in other estuaries (GUO
297 et al., 2019 ; SHE et al., 2016 ; WANG et al., 2013). The characteristic microbial communities
298 were determined in each site along the Adour Estuary.

299 **4.2.3.4 Influence of micropollutants on bacterial assemblages**

300 Correlation and PERMANOVA analyses revealed that the microbial communities were signi-
301 ficantly ($p\text{-value}<0.05$) influenced by 12 main environmental parameters, including 6 metals
302 (As, Cu, Mn, Sn, Ti and Zn), 4 pharmaceuticals (atenolol, hydrochlorothiazide, oxolinic acid
303 and trimethoprim), chlorophyll a and $\delta^{13}\text{C}$, a parameter linked to organic matter transforma-

tion processes (Table 4.1). Additional collinear parameters V, Co and losartan respectively associated to As, Mn and Zn were also revealed (Table 4.1). Interestingly, the correlation of Zn, proxy used as urban water marker (PRINGAULT et al., 2012), with losartan, antihypertensive drug, further supported the urban contamination.

TABLEAU 4.1 – Contribution of environmental variables on the organisation of microbial communities by PERMANOVA based on Bray-Curtis index. Monte Carlo’s level of significance (p) below 0.05 are indicated in bold. Only the most significant collinear variables ($\text{coefficient}_{\text{pear}} \geq |0.85|$) revealed by PERMANOVA are indicated.

Environmental variable	Pseudo-F ratio (F)	R ²	p*	Correlation between variables ($\text{coefficient}_{\text{pear}}$)
As	4.85	0.061	0.006	Vanadium (0.87)
Cu	4.89	0.061	0.001	
Cr	1.99	0.025	0.092	
Mn	3.68	0.046	0.012	Cobalt (0.90)
Se	1.53	0.019	0.152	
Sn	6.13	0.077	0.001	Losartan (0.85)
Ti	7.53	0.094	0.001	
Zn	5.62	0.070	0.001	
Acetaminophen	2.22	0.028	0.059	
Atenolol	4.52	0.057	0.001	
Hydrochlorothiazide	2.95	0.037	0.024	
Lorazepam	1.77	0.022	0.127	
Niflumic acid	2.20	0.028	0.063	
Norfloxacin	1.84	0.023	0.114	
Oxolinic acid	2.68	0.034	0.041	
Sulfamethoxazole	1.60	0.020	0.147	
Trimethoprim	3.06	0.038	0.023	
Chlorophyll a	2.41	0.030	0.046	
C_{org}/N_{org}	1.80	0.023	0.131	
δ¹³C	4.80	0.060	0.007	
Season	2.32	0.058	0.037	

* : Monte Carlo approximated level of significance

The link of Zn with pharmaceuticals was also supported by the correspondence canonical analysis (CCA) showing that Zn, atenolol (beta blocker) and hydrochlorothiazide (antihypertensive) were associated with middle and downstream sites (Fig. 4.5), particularly with the site 6 located close to a wastewater treatment plant discharge. The co-presence of losartan probably modifies the effect of Zn on microbial communities that has been shown to affect

313 microbial activities (PRINGAULT et al., 2008, 2010, 2012). Interestingly, the CCA revealed
314 that the abundance of 9 bacterial genera correlated with atenolol and hydrochlorothiazide
315 concentrations (Fig. 4.5). Most of the genera are usually found in anaerobic digesters such as
316 *Acetobacteroides*, *Acidaminobacter*, *Simplicispira*, *Leucobacter*, *Williamwhitmania*, and *Co-*
317 *mamonas* (MEI et al., 2020; SCHUMANN & PUKALL, 2017; SU et al., 2014; SZABÓ et al.,
318 2017; WEN et al., 2017).

319 Additionally, the CCA showed the distribution of microbial communities according to season
320 along the axis 1 (explaining 21% of the variation) while they were distributed according to
321 the location in the estuary along the axis 2 (explaining 14% of the variation). Noteworthy,
322 microbial communities from the upstream sites were associated with antibiotics (trimetho-
323 prim and oxolinic acid) suggesting farming origin of these antibiotics. Several bacterial ge-
324 nera were found associated to trimethoprim, including genera belonging to *Plantomycetes*
325 (*Gemmata* and *Fimbriiglobus*) known to exhibit wide antibiotic resistance (GODINHO et al.,
326 2019). Similarly, the CCA showed the association of As and Sn with specific bacterial genera,
327 including among them *Deftuviicoccus*, *Propionigenium*, *Ruminococcus*, *Malonomonas*, *Ma-*
328 *cellibacteroides* described as anaerobic bacteria (DEHNING & SCHINK, 1989; JABARI et al.,
329 2012; SCHINK & PFENNIG, 1982), together with the cyanobacteria *Aliterella*, *Chroococci-*
330 *diopsis*, *Calothrix* (RIGONATO et al., 2016) and other aerobic bacteria such as *Craurococcus*,
331 *Blastococcus*, *Dokdonella* (LEE, 2006; SAITOH et al., 1998).

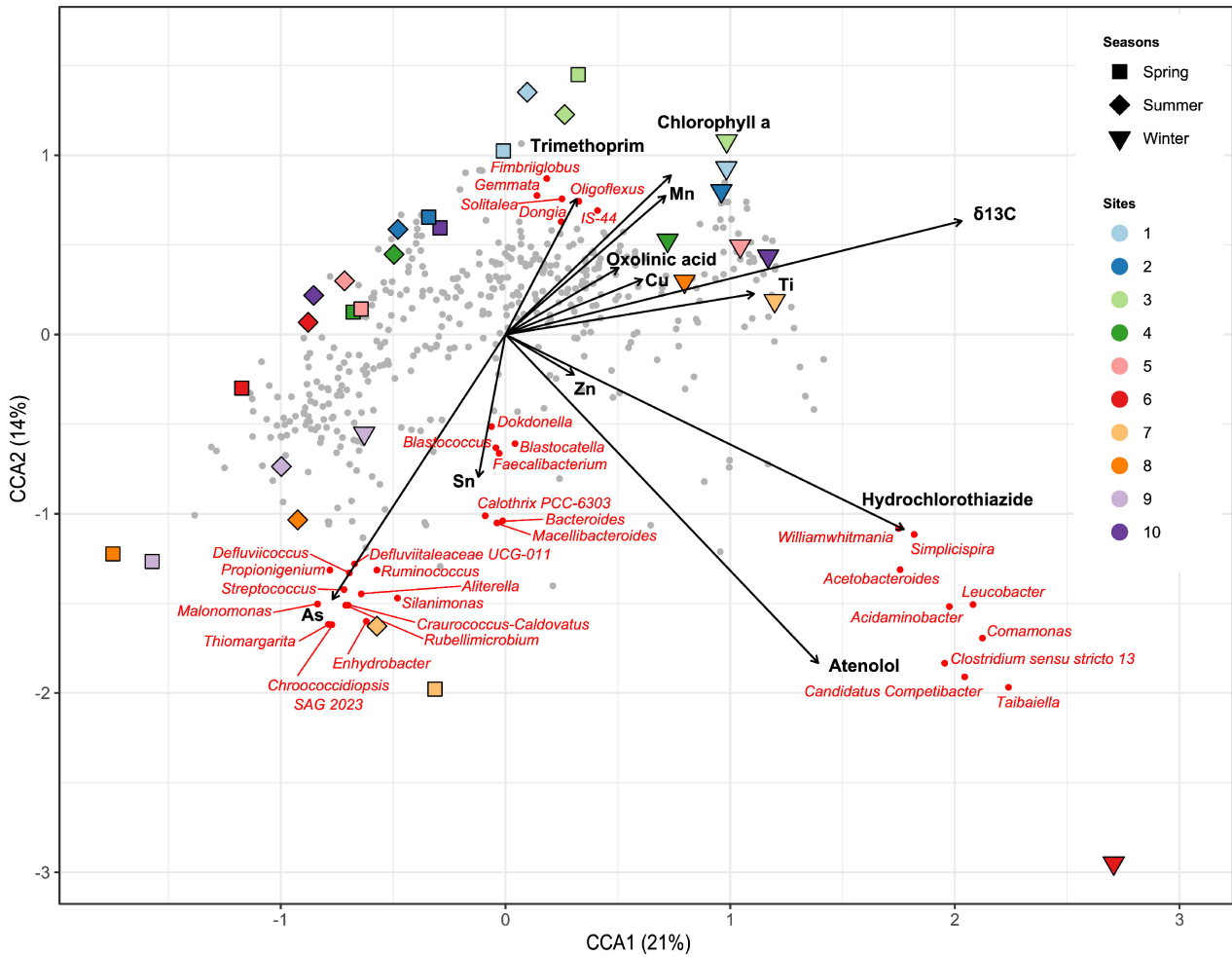


FIGURE 4.5 – Correlations between microbial community structures (genus level) with the environmental chemical parameters by canonical correspondence analysis (CCA). The sites, the chemicals (arrows), and the ASVs at the genus level (grey points) are plotted. The bacterial genera discussed in the text are shown in red.

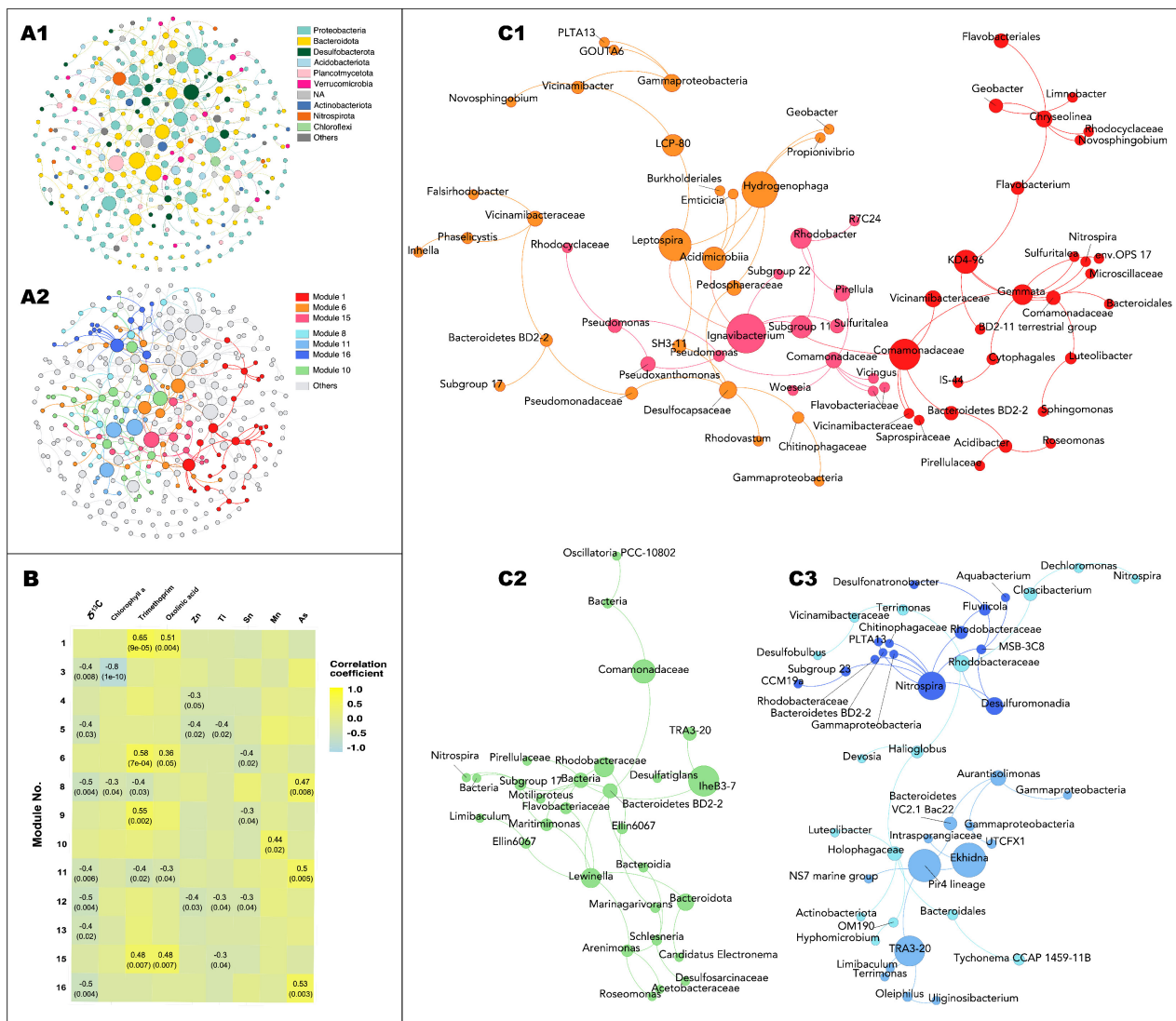


FIGURE 4.6 – Adour sediments microbial communities network analysis. (A) Global network representation where each node corresponds to an ASV, node size is proportional to the node betweenness. Networks are colored according to phylum (A1) where NA designated not assigned sequences and Other, ASV not assigned sequences and phyla with abundance below 1% or (A2) modules, where modules significantly positively correlated with environmental parameters selected are identified in colors and Others designed nodes whom does not belong to these modules. (B) Heatmap of correlation between modules and environmental variables indicating Spearman correlation values (p-value). Only correlation with p-value higher or equal to 0.05 were represented. (C) Adour sediments microbial communities modules representation. Visualization of selected modules correlated to trimethoprim and oxolinic acid (C1), to Mn (C2) and to As (C3) illustrating ASVs within each module and their interactions. Each node corresponds to an ASV, node size is proportional to the node betweenness. Modules are identified by colors according to the legend in (A2). For a better resolution version of the Fig., see Fig. S2 for (A1) and (A2) and Fig. S3 for (C1), (C2) and (C3).

332 Such observations suggested that interactions between various microbial functional groups
333 are pivotal for ensuring ecosystem functioning, as shown for fluctuating polluted environ-
334 ments (DURAN et al., 2015; MCGENITY et al., 2012). In order to deeper describe the micro-
335 bial relationships and their interactions with contaminants (metals and pharmaceuticals), a
336 co-occurrence network was constructed based on strong and significant Spearman correla-
337 tions. The microbial network contained 347 nodes and 404 edges, with topological features
338 of complex systems such as scale-free, small-world, and modularity (M) (Table S8) indica-
339 ting non-random network as previously proposed (WAN et al., 2020). The microbial network
340 possessed high connectivity and modularity (Table S8) suggesting stability and resilience of
341 the system as reported for microbial networks in paddy soil (WAN et al., 2020) and marine
342 coastal sediment (JEANBILLE et al., 2016). Following the 16S composition, the microbial
343 network was dominated by *Proteobacteria* (40%) and *Bacteroidetes* (25%), *Desulfobacte-*
344 *rota* (7%), *Acidobacteriota* (6%), *Planctomycetota* (4%), and *Verrucomicrobiota* (4%) (Fig.
345 4.6A1).

346 Modularity analysis identified a total of 17 modules structuring the network, each composed
347 by a number of nodes ranging from 9 to 29. Noteworthy, the modules were mainly composed
348 by ASVs occurring in summer and/or spring, probably because the ASV associated to winter
349 did not show the minimal occurrence required for network construction (LIU et al., 2015),
350 in accordance with the seasonal variability observed by CCA (Fig. 4.5). The modules corres-
351 pond to groups of strongly connected ASVs within the group but with very few connections
352 outside the group. The modules showing significant correlations (p-value<0.05) with the
353 most significant pollutants (PERMANOVA, Table 4.1) were detected (Fig. 4.6B).

354 Some modules showed negative correlations with environmental parameters (Fig. 4.6B) sug-
355 gesting that these modules group microbial taxa either sensitive to metals (modules 4, 5, and

12), or not linked with organic matter quality or transformation processes (modules 3 and 13). Such sensitive microbial taxa might be useful to report ecosystem quality, as for example in the MicrogAmbi integrative microbial community index combining sensitive and tolerant taxa (AYLAGAS et al., 2017). However, further investigations are required to understand the role of such sensitive microbial taxa in the ecosystem functioning. The other modules showed positive correlations with either antibiotics (modules 1, 6, 9, and 15) or metals (modules 8, 10, 11, and 16) (Fig. 4.6B). It was surprising that none of the modules correlate with both antibiotics and metals since several studies have shown multiple resistances to the combination of these compounds (BAKER-AUSTIN et al., 2006 ; SUN et al., 2021). Regarding the modules positively correlated to antibiotics, three were correlated to both oxolinic acid and trimethoprim (modules 1, 6, and 15), while the module 9 was correlated only to trimethoprim (Fig. 4.6B). Both antibiotics, used in human and animal therapies, have been detected together in effluents of wastewater treatment plants (RODRIGUEZ-MOZAZ et al., 2020). Resistant bacteria to these antibiotics and their resistance genes have been described (CONCHA et al., 2021 ; POUWELS et al., 2018), including bacterial isolates showing co-resistance to trimethoprim and oxolinic acid (SHAH et al., 2014 ; SYROVA et al., 2018). Both resistance genes have been found in integrons favouring their spreading in the environment (BLAHNA et al., 2006 ; TRAN & JACOBY, 2002), which might explain the presence of resistant bacteria to these antibiotics in the Adour Estuary. The modules correlated with both trimethoprim and oxolinic acid (modules 1, 6 and 15) were structured around ASVs affiliated to *Hydrogenophaga*, *Ignavibacterium*, *Leptospira* genera, and *Comamonadaceae* family, which represent keystone ASVs by exhibiting highest connectivity within the network (Fig. 4.6C). Briefly, *Comamonadaceae* is a large and diverse family, to which *Hydrogenophaga* genus belongs. This family harbor a large diversity of metabolism, such as, anaerobic denitrifiers, iron-reducing and pho-

380 toautotrophic bacteria (WILLEMS, 2014). Moreover, *Hydrogenophaga* also shown multiples
381 metabolism within the genus, with hydrogen-oxidizing bacteria using the oxidation of H₂
382 as an energy source and CO₂ as a carbon source (WILLEMS et al., 1989). *Ignavibacterium*
383 *album*, the unique member of *Ignavibacterium* genus and also the *Ignavibacteriaceae* family,
384 were isolated from microbial mats developed in hot spring water streams in Japan (INO et
385 al., 2010). Some species of *Leptospira* sp. are pathogen bacteria, responsible of leptospirosis,
386 a disease targeting humans and animals (COSTA et al., 2015). All these genera have been
387 reported to show resistance to trimethoprim and/or oxolinic acid, as well as to other anti-
388 biotic (INO et al., 2010 ; OSIŃSKA et al., 2016 ; SORGEN et al., 2021 ; WUTHIEKANUN et al.,
389 2015). In addition, the modules included several less connected ASVs, which related genera
390 were reported as trimethoprim resistant, such as : *Geobacter* (modules 1 and 6) (KASHEFI
391 et al., 2003), *Inhella* (module 6) (CHEN et al., 2012), *Sphingomonas* (module 1) (MUSTAFA
392 et al., 2018 ; VAZ-MOREIRA et al., 2011), *Roseomonas* (module 1) (DÉ et al., 2004), *Gem-*
393 *mata* (module 1) (CAYROU et al., 2010), and *Pseudomonas* (module 15) (MENG et al., 2020 ;
394 OSIŃSKA et al., 2016) that is also known as oxolinic acid resistant (CONCHA et al., 2021). It
395 is also worth to note that other genera, including *Luteolibacter* (module 1) (PASCUAL et al.,
396 2017), *Novosphingobium* (modules 1 and 6) (VAZ-MOREIRA et al., 2011), *Nitrospira* (mo-
397 dule 1) (MEHRANI et al., 2020), and *Sulfuritalea* (modules 1 and 15) (NÖLVAK et al., 2018)
398 have been described as antibiotic resistants. Regarding the modules positively correlated to
399 metal(loid)s (Fig. 4.6B), one was correlated to Mn (module 10) and three to As (modules 8,
400 11, and 16). The module 10 significantly correlated to Mn, included keystone ASVs affiliated
401 to *Lewinella*, uncultured IheB3-7 bacteria, and two ASVs corresponding to the families of
402 *Comamonadaceae* and *Rhodobacteraceae* (Fig. 4.6C2). *Lewinella* and the uncultured IheB3-7
403 bacteria are marine bacteria, typically found in sediment and deep-sea systems respectively

404 (NAKAGAWA et al., 2005). Interestingly, several members of *Comamonadaceae* family are re-
405 cognized as manganese-oxidizing bacteria (BREDA et al., 2017). Beside these keystone ASVs,
406 the module gathers several ASVs that have been described for their Mn removal capacity
407 such as ASVs associated to the *Flavobacteriaceae* and *Pirellulaceae* families (CARMICHAEL
408 et al., 2013; MOLARI et al., 2020), *Nitrospira* and *Oscillatoria* genera (GERASIMENKO et al.,
409 2013; PALOMO et al., 2016) as well as metal(loid)s resistant genera such as *Arenimonas* and
410 *Roseomonas* (LI, F., et al., 2021; WANG, F., et al., 2021). Noteworthy, an ASV related
411 to the cable bacteria *Candidatus Electronema*, described in freshwater ecosystem (TROJAN
412 et al., 2016), formed a node in the Mn associated module 10, indicating the importance of
413 electron transfer in environments where metal(loid)s are present.

414 The modules correlated to As were organised around keystone ASVs (nodes with highest
415 connectivity) affiliated to *Rhodobacteraceae* and *Holophagaceae* (module 8), *Ekhidna*, *Pir4*
416 *lineage* and TRA3-20 family (module 11) and *Nitrospira* (module 16) (Fig. 4.6C3). These
417 genera have been detected in various aquatic ecosystems (GONÇALVES BENDIA et al., 2021;
418 POHLNER et al., 2019), including metal(loid)s contaminated sediments (ISLAM et al., 2005;
419 MOLARI et al., 2020; XU et al., 2020). Additionally, some of the genera have been described
420 as As resistant taxa, including the genera of the *Rhodobacteraceae* (CROGNALE et al., 2019)
421 and *Holophagaceae* (ISLAM et al., 2005; STROUD et al., 2014) families, and members of the
422 *Nitrospira* genera (LÜCKER et al., 2010; PALOMO et al., 2018). Such observations further
423 supported their key role for structuring such As resistant modules. It was particularly inter-
424 esting to found *Nitrospira*, a nitrite-oxidizing genera able to perform complete nitrification
425 (comammox), which has been demonstrated to carry As resistance mechanisms (LÜCKER et
426 al., 2010; PALOMO et al., 2018). It is likely that *Nitrospira* plays a crucial role promoting the
427 formation of bacterial assemblages in association with other ASVs related to *Dechloromonas*

428 (module 8) and *Aquabacterium* (module 16) genera showing As resistance (SUHADOLNIK
429 et al., 2017). Additionally, it is worth to mention the presence of sulphate-reducing bacteria
430 (SRB) in the modules correlated to As. Particularly, *Desulfonatronobacter*, *Desulfuromo-*
431 *nadia* (module 16), and *Desulfobulbus* (module 8), which have been shown involved in As
432 methylation and demethylation processes (CHEN et al., 2019). Such observation is in ac-
433 cordance with several studies reporting the presence of SRB and other sulphate-reducing
434 microorganisms (SRM) in As rich environments (BRUNEEL et al., 2008; DIAS et al., 2008;
435 GILOTEAUX et al., 2013; LIU et al., 2018). It is likely that SRM might play a crucial role
436 in the organisation of microbial networks in response to the presence of As. Noteworthy,
437 the modules correlated to As included several other nodes corresponding to ASVs related
438 to genera known for their ability to resist and/or tolerate metal(loid)s such as members of
439 *Chitinophagaceae* (module 16), *Intrasporangiaceae* (module 11) families, *Devosia* (module 8),
440 *Fluviicola* (module 16), *Hyphomicrobium* (module 8), *Cloacibacterium* (module 8 and 11),
441 and *Terrimonas* (module 8) genera (LAWSON, 2015; NOUHA et al., 2016; STEIN et al., 2001;
442 TALESKI et al., 2020; XU et al., 2020; ZONG et al., 2019).

443 The presence of ASVs related to *Nitrospira* in almost all modules significantly correlated with
444 pollutants was the most striking observation, which suggested that the presence of *Nitrospira*
445 is an essential link in the microbial networks. Such omnipresence of *Nitrospira* is probably
446 explained by its involvement on the nitrogen cycle, particularly via comammox, combined
447 with its capacity to deal with the presence of organic and inorganic contaminants (LÜCKER
448 et al., 2010; PALOMO et al., 2018). The presence of *Nitrospira* has been reported in microbial
449 networks in various ecosystems, including wastewater treatment plant (PETROVSKI et al.,
450 2020), saline soil (LI, X., et al., 2021), alpine grassland (QI et al., 2021), agricultural soil
451 (HAN et al., 2021), estuarine mudflat (WANG, X., et al., 2021). Such cosmopolitan behaviour

452 suggests that *Nitrospira* is a “good friend” for microorganisms, which is an ideal partner
453 for the colonization of a wide range of habitats. Such capability is particularly interesting
454 for treatments of contaminated sediments, making *Nitrospira* a potential bio-augmentation
455 agent.

456 4.2.4 Conclusion

457 Our study shows the stratification of microbial communities along an estuarine continuum
458 highlighting the fragmentation according to habitat filtering despite the mixing zone that re-
459 presents the conditions conducive to the coalescence of microbial communities. Indeed, spe-
460 cific microbial communities were observed, depending on the occurrence and level of contami-
461 nants, that allowed to detect specific and keystone taxa representing “specialists” particularly
462 well adapted to the presence of contaminants. Such “specialist” taxa, like *Hydrogenophaga*,
463 *Ignavibacterium*, *Dechloromonas* and *Oscillatoria* represent potential bio-indicators or “sen-
464 tinels” to be included in integrative indices for evaluating the ecological status of aquatic
465 environments. The network analysis showed that the microbial communities were organi-
466 sed in specialized modules around the “specialist” keystone taxa. The modules are tailored
467 to respond specifically to the presence of a contaminant type, providing useful information
468 to understand how the environmental parameters shape the organisation of microbial as-
469 semblages. The results pave the way for future studies, particularly at the functional level,
470 for deciphering the metabolic networks involved in the ecosystem functioning in estuarine
471 ecosystems.

472 **Acknowledgements**

473 This work was financially supported by ERDF (European Regional Development Fund) and
474 AEAG (Agence de l'Eau Adour-Garonne) grants in the framework of the MICROPOLIT
475 project. The authors declare that they have no known competing financial interests or per-
476 sonal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.
477 Authors are grateful to Emmanuel Tessier, Aurore Gueux, Emna Zhegal, Andrea Romero
478 Ramas, Alyssa Azaroff, Sandre Faure, and Aurore Méré who helped in sediment samples
479 collection and analysis.

480 **Data Availability Statement**

481 The sequencing datasets generated for this study are available at NCBI Sequence Read
482 Archive (SRA) database under accession number **SUB9572817**.

4.2.5 References

- 483
- 484 ABREU, C., JURGENS, G., DE MARCO, P., SAANO, A. & BORDALO, A. A. (2001). Crenarchaeota and
485 euryarchaeota in temperate estuarine sediments. *Journal of Applied Microbiology*, 90(5), 713-718.
- 486 AMINOT, A. & KÉROUEL, R. (2004). Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. (Ifremer,
487 Éd.).
- 488 AMINOT, Y., LE MENACH, K., PARDON, P., ETCHEBER, H. & BUDZINSKI, H. (2016). Inputs and seasonal
489 removal of pharmaceuticals in the estuarine Garonne River. *Marine Chemistry*, 185, 3-11.
- 490 AYLAGAS, E., BORJA, Á., TANGHERLINI, M., DELL'ANNO, A., CORINALDESI, C., MICHELL, C. T.,
491 IRIGOIEN, X., DANOVARO, R. & RODRÍGUEZ-EZPELETA, N. (2017). A bacterial community-based index to
492 assess the ecological status of estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, 114, 679-688.
- 493 BAKER-AUSTIN, C., WRIGHT, M. S., STEPANAUSKAS, R., & MCARTHUR, J. V. (2006). Co-selection of
494 antibiotic and metal resistance. *Trends in Microbiology*, 14(4), 176-182.
- 495 BASSET, A., ELLIOTT, M., WEST, R. J. & WILSON, J. G. (2013). Estuarine and lagoon biodiversity and
496 their natural goods and services. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.
- 497 BASTIAN, M., HEYMAN, S. & JACOMY, M. (2009). Gephi : An open source software for exploring and
498 manipulating networks.
- 499 BAUER, J. E., CAI, W. J., RAYMOND, P. A., BIANCHI, T. S., HOPKINSON, C. S., & REGNIER, P. A.
500 G. (2013). The changing carbon cycle of the coastal ocean. *Nature*, 504, 61-70.
- 501 BEN SALEM, F., BEN SAID, O., CRAVO-LAUREAU, C., MAHMOUDI, E., BRU, N., MONPERRUS, M. &
502 DURAN, R. (2019). Bacterial community assemblages in sediments under high anthropogenic pressure at
503 Ichkeul Lake/Bizerte Lagoon hydrological system, Tunisia. *Environmental Pollution*, 252, 644-656.
- 504 BLAHNA, M. T., ZALEWSKI, C. A., REUER, J., KAHLMEYER, G., FOXMAN, B. & MARRS, C. F. (2006).
505 The role of horizontal gene transfer in the spread of trimethoprim-sulfamethoxazole resistance among uro-
506 pathogenic *Escherichia coli* in Europe and Canada. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57(4), 666-672.
- 507 BORDENAVE, S., FOURÇANS, A., BLANCHARD, S., GOÑI, M. S., CAUMETTE, P. & DURAN, R. (2004).
508 Structure and functional analyses of bacterial communities changes in microbial mats following petroleum

509 exposure. *Ophelia*, 58(3), 195-203.

510 BREDA, I. L., RAMSAY, L. & ROSLEV, P. (2017). Manganese oxidation and bacterial diversity on different
511 filter media coatings during the start-up of drinking water biofilters. *Journal of Water Supply : Research and
512 Technology - AQUA*, 66(8), 641-650.

513 BRUNEEL, O., PASCAULT, N., EGAL, M., BANCON-MONTIGNY, C., GOÑI-URRIZA, M. S., ELBAZ-
514 POULICHET, F., PERSONNÉ, J. C. & DURAN, R. (2008). Archaeal diversity in a Fe-As rich acid mine
515 drainage at Carnoulès (France). *Extremophiles*, 12(4), 563-571.

516 CALLAHAN, B. J., MCMURDIE, P. J., ROSEN, M. J., HAN, A. W., JOHNSON, A. J. A. & HOLMES, S.
517 P. (2016a). DADA2 : High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7),
518 581-583.

519 CALLAHAN, B. J., SANKARAN, K., FUKUYAMA, J. A., MCMURDIE, P. J. & HOLMES, S. P. (2016b).
520 Bioconductor Workflow for Microbiome Data Analysis : from raw reads to community analyses [Version 2].
521 *F1000Research*, 5(1492), 1-48.

522 CARMICHAEL, M. J., CARMICHAEL, S. K., SANTELLI, C. M., STROM, A. & BRÄUER, S. L. (2013). Mn(II)-
523 oxidizing Bacteria are Abundant and Environmentally Relevant Members of Ferromanganese Deposits in
524 Caves of the Upper Tennessee River Basin. *Geomicrobiology Journal*, 30(9), 779-800.

525 CAVALHEIRO, J., ZULOAGA, O., PRIETO, A., PREUDHOMME, H., AMOUROUX, D. & MONPERRUS, M.
526 (2017). Occurrence and Fate of Organic and Organometallic Pollutants in Municipal Wastewater Treat-
527 ment Plants and Their Impact on Receiving Waters (Adour Estuary, France). *Archives of Environmental
528 Contamination and Toxicology*, 73(4), 619-630.

529 CAYROU, C., RAOULT, D. & DRANCOURT, M. (2010). Broad-spectrum antibiotic resistance of Planctomy-
530 cetes organisms determined by Etest. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(10), 2119-2122.

531 CHEN, C., LI, L., HUANG, K., ZHANG, J., XIE, W. Y., LU, Y., DONG, X. & ZHAO, F. J. (2019).
532 Sulfate-reducing bacteria and methanogens are involved in arsenic methylation and demethylation in paddy
533 soils. *ISME Journal*, 13(10), 2523-2535.

534 CHEN, W. M., SHEU, F. S., YOUNG, C. C. & SHEU, S. Y. (2012). *Inhella fonticola* sp. nov., isolated
535 from spring water, and emended description of the genus *Inhella*. *International Journal of Systematic and*

536 *Evolutionary Microbiology*, 62(5), 1048-1054.

537 CLAUSET, A., NEWMAN, M. E. & MOORE, C. (2004). Finding community structure in very large networks.
538 *Physical Review E - Statistical Physics, Plasmas, Fluids, and Related Interdisciplinary Topics*, 70(6 Pt 2),
539 066111.

540 CONCHA, C., MIRANDA, C. D., ROJAS, R., GODOY, F. A. & ROMERO, J. (2021). Characterization of a
541 novel variant of the quinolone-resistance gene qnrB (qnrB89) carried by a multi-drug resistant *Citrobacter*
542 *gillenii* strain isolated from farmed salmon in Chile. *Antibiotics*, 10(3), 1-12.

543 COSTA, F., HAGAN, J. E., CALCAGNO, J., KANE, M., TORGERSON, P., MARTINEZ-SILVEIRA, M. S.,
544 STEIN, C., ABELA-RIDDER, B. & KO, A. I. (2015). Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis : A
545 Systematic Review. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 9(9).

546 COSTLEY, C. T., MOSSOP, K. F., DEAN, J. R., GARDEN, L. M., MARSHALL, J. & CARROLL, J.
547 (2000). Determination of mercury in environmental and biological samples using pyrolysis atomic absorption
548 spectrometry with gold amalgamation. *Analytica Chimica Acta*, 405(1-2), 179-183.

549 CRAVO-LAUREAU, C., HERNANDEZ-RAQUET, G., VITTE, I., JÉZÉQUEL, R., BELLET, V., GODON, J. J.,
550 CAUMETTE, P., BALAGUER, P. & DURAN, R. (2011). Role of environmental fluctuations and microbial
551 diversity in degradation of hydrocarbons in contaminated sludge. *Research in Microbiology*, 162(9), 888-895.

552 CROGNALE, S., CASENTINI, B., AMALFITANO, S., FAZI, S., PETRUCCIOLI, M. & ROSSETTI, S. (2019).
553 Biological As(III) oxidation in biofilters by using native groundwater microorganisms. *Science of the Total*
554 *Environment*, 651, 93-102.

555 DÉ, I., ROLSTON, K. V. & HAN, X. Y. (2004). Clinical significance of *Roseomonas* species isolated from
556 catheter and blood samples : Analysis of 36 cases in patients with cancer. *Clinical Infectious Diseases*, 38(11),
557 1579-1584.

558 DEHNING, I. & SCHINK, B. (1989). *Malonomonas rubra* gen. nov. sp. nov., a microaerotolerant anaerobic
559 bacterium growing by decarboxylation of malonate. *Archives of Microbiology*, 151(5), 427-433.

560 DENG, Y., JIANG, Y. H., YANG, Y., HE, Z., LUO, F. & ZHOU, J. (2012). Molecular ecological network
561 analyses. *BMC Bioinformatics*, 13(113).

- 562 DIAS, M., SALVADO, J. C., MONPERRUS, M., CAUMETTE, P., AMOUROUX, D., DURAN, R. & GUYO-
563 NEAUD, R. (2008). Characterization of *Desulfomicrobium salsuginis* sp. nov. and *Desulfomicrobium aestuarii*
564 sp. nov., two new sulfate-reducing bacteria isolated from the Adour estuary (French Atlantic coast) with
565 specific mercury methylation potentials. *Systematic and Applied Microbiology*, 31(1), 30-37.
- 566 DURAN, R., BIELEN, A., PARADŽIK, T., GASSIE, C., PUSTIJANAC, E., CAGNON, C., HAMER, B. &
567 VUJAKLIJA, D. (2015). Exploring Actinobacteria assemblages in coastal marine sediments under contrasted
568 Human influences in the West Istria Sea, Croatia. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(20),
569 15215- 15229.
- 570 ELLIOTT, M. & QUINTINO, V. (2007). The Estuarine Quality Paradox, Environmental Homeostasis and
571 the difficulty of detecting anthropogenic stress in naturally stressed areas. *Marine Pollution Bulletin*, 54(6),
572 640-645.
- 573 FABBRI, E. & FRANZELLITTI, S. (2016). Human pharmaceuticals in the marine environment : Focus on
574 exposure and biological effects in animal species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35(4), 799-812.
- 575 FENG, B. W., LI, X. R., WANG, J. H., HU, Z. Y., MENG, H., XIANG, L. Y. & QUAN, Z. X. (2009).
576 Bacterial diversity of water and sediment in the Changjiang estuary and coastal area of the East China Sea.
577 *FEMS Microbiology Ecology*, 70(2), 236-248.
- 578 FERNÁNDEZ-GÓMEZ, B., RICHTER, M., SCHÜLER, M., PINHASSI, J., ACINAS, S. G., GONZÁLEZ, J. M.
579 & PEDRÓS-ALIÓ, C. (2013). Ecology of marine bacteroidetes : A comparative genomics approach. *ISME*
580 *Journal*, 7, 1026-1037.
- 581 FORTUNATO, C. S. & CRUMP, B. C. (2015). Microbial gene abundance and expression patterns across a
582 river to ocean salinity gradient. *IPLoS ONE*, 10(11), 1-22.
- 583 *FEMS Microbiology Ecology*, FUHRMAN, J. A. & STEELE, J. A. (2008). Community structure of marine
584 bacterioplankton : Patterns, networks, and relationships to function. *Aquatic Microbial Ecology*, 53(1), 69-81.
- 585 GERASIMENKO, L. M., ORLEANSKII, V. K. & ZAITSEVA, L. V. (2013). Accumulation and precipitation of
586 Mn²⁺ by the cells of *Oscillatoria terebriformis*. *Microbiology*, 82(5), 609-617.
- 587 GILOTEAUX, L., DURAN, R., CASIOT, C., BRUNEEL, O., ELBAZ-POULICHET, F. & GOÑI-URRIZA, M.
588 (2013). Three-year survey of sulfate-reducing bacteria community structure in Carnoulès acid mine drainage

- 589 (France), highly contaminated by arsenic. *FEMS Microbiology Ecology*, 83(3), 724-737.
- 590 GODINHO, O., CALISTO, R., ØVREÅS, L., QUINTEIRA, S. & LAGE, O. M. (2019). Antibiotic susceptibility
591 of marine Planctomycetes. *Antonie van Leeuwenhoek*, 112(8), 1273-1280.
- 592 GONÇALVES BENDIA, A., CEZAR FORNAZIER MOREIRA, J., CORREA NEIVA FERREIRA, J., GAMBA RO-
593 MANO, R., GONÇALVES DE CASTRO FERREIRA, I., CASTILLO FRANCO, D., CARMELA MONTONE, R.
594 & HELENA PELLIZARI, V. (2021). Diversity of free-living prokaryotes on terrestrial and marine Antarctic
595 habitats. *bioRxiv*.
- 596 GUO, X.-P., LU, D.-P., NIU, Z.-S., FENG, J.-N., CHEN, Y.-R., TOU, F.-Y., LIU, M. & YANG, Y. (2018).
597 Bacterial community structure in response to environmental impacts in the intertidal sediments along the
598 Yangtze Estuary, China. *Marine Pollution Bulletin*, 126, 141-149.
- 599 GUO, X.-P., YANG, Y., SHUN NIU, Z., LU, D. P., HONG ZHU, C., NAN FENG, J., YUAN WU, J., RU
600 CHEN, Y., YUN TOU, F., LIU, M. & HOU, L. (2019). Characteristics of microbial community indicate
601 anthropogenic impact on the sediments along the Yangtze Estuary and its coastal area, China. *Science of*
602 *the Total Environment*, 648, 306-314.
- 603 HAN, S., HUANG, Q. & CHEN, W. (2021). Partitioning Nitrospira community structure and co-occurrence
604 patterns in a long-term inorganic and organic fertilization soil. *Journal of Soils and Sediments*, 21(2), 1099-
605 1108.
- 606 HE, K., HAIN, E., TIMM, A., TARNOWSKI, M. & BLANEY, L. (2019). Occurrence of antibiotics, estrogenic
607 hor- mones, and UV-filters in water, sediment, and oyster tissue from the Chesapeake Bay. *Science of the*
608 *Total Environment*, 3101-3109.
- 609 IINO, T., MORI, K., UCHINO, Y., NAKAGAWA, T., HARAYAMA, S. & SUZUKI, K. I. (2010). Ignavibacterium
610 album gen. nov., sp. nov., a moderately thermophilic anaerobic bacterium isolated from microbial mats at a
611 terrestrial hot spring and proposal of Ignavibacteria classis nov., for a novel lineage at the periphery of green
612 sulfur bacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(6), 1376-1382.
- 613 ISLAM, F. S., BOOTHMAN, C., GAULT, A. G., POLYA, D. A. & LLOYD, J. R. (2005). Potential role of the
614 Fe(III) reducing bacteria Geobacter and Geothrix in controlling arsenic solubility in Bengal delta sediments.
615 *Mineralogical Magazine*, 69(5), 865-875.

- 616 JABARI, L., GANNOUN, H., CAYOL, J. L., HEDI, A., SAKAMOTO, M., FALSEN, E., OHKUMA, M., HAMDI,
617 M., FAUQUE, G., OLLIVIER, B. & FARDEAU, M. L. (2012). *Macellibacteroides fermentans* gen. nov., sp.
618 nov., a member of the family Porphyromonadaceae isolated from an upflow anaerobic filter treating abattoir
619 wastewaters. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(10), 2522-2527.
- 620 JACQUIOD, S., CYRIAQUE, V., RIBER, L., AL-SOUD, W. A., GILLAN, D. C., WATTIEZ, R. & SØRENSEN,
621 S. J. (2018). Long-term industrial metal contamination unexpectedly shaped diversity and activity response
622 of sediment microbiome. *Journal of Hazardous Materials*, 344, 299-307.
- 623 JEANBILLE, M., GURY, J., DURAN, R., TRONCZYNSKI, J., AGOGUÉ, H., BEN SAÏD, O., GHIGLIONE, J.-F.
624 & AUGUET, J.-C. (2016). Response of Core Microbial Consortia to Chronic Hydrocarbon Contaminations
625 in Coastal Sediment Habitats. *Frontiers in Microbiology*, 7(1637), 1-13.
- 626 JOHNSTON, E. L. & ROBERTS, D. A. (2009). Contaminants reduce the richness and evenness of marine
627 communities : A review and meta-analysis. *Environmental Pollution*, 157(6), 1745-1752.
- 628 KACI, A., PETIT, F., FOURNIER, M., CÉCILLON, S., BOUST, D., LESUEUR, P. & BERTHE, T. (2016).
629 Diversity of active microbial communities subjected to long-term exposure to chemical contaminants along
630 a 40-year-old sediment core. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(5), 4095-110.
- 631 KASHEFI, K., HOLMES, D. E., BAROSS, J. A. & LOVLEY, D. R. (2003). Thermophily in the Geobacte-
632 raceae : *Geothermobacter ehrlichii* gen. nov., sp. nov., a novel thermophilic member of the geobacteraceae
633 from the "Bag City" hydrothermal vent. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(5), 2985-2993.
- 634 KENNISH, M. J. (2002). Environmental threats and environmental future of estuaries. *Environmental*
635 *Conservation*, 29(1), 78-107.
- 636 KIRCHMAN, D. L. (2002). The ecology of Cytophaga-Flavobacteria in aquatic environments. *FEMS Micro-*
637 *biology Ecology*, 39, 91-100.
- 638 KISAND, V., CUADROS, R. & WIKNER, J. (2002). Phylogeny of culturable estuarine bacteria catabolizing
639 riverine organic matter in the northern Baltic Sea. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(1), 379-388.
- 640 KUBO, A., & KANDA, J. (2017). Seasonal variations and sources of sedimentary organic carbon in Tokyo
641 Bay. *Marine Pollution Bulletin*, 114(2), 637-643.
- 642 LANCELEUR, L., SCHÄFER, J., BOSSY, C., COYNEL, A., LARROSE, A., MASSON, M., & BLANC, G.

- 643 (2011). Silver fluxes to the Gironde Estuary - Eleven years (1999-2009) of monitoring at the watershed scale.
644 *Applied Geochemistry*, 26, 797–808.
- 645 LAWSON, P. A. (2015). Arsenicococcus. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (p. 1-
646 5). Wiley. LEE, S. D. (2006). Blastococcus jejuensis sp. nov., an actinomycete from beach sediment, and
647 emended description of the genus Blastococcus Ahrens and Moll 1970. *International Journal of Systematic
648 and Evolutionary Microbiology*, 56(10), 2391–2396.
- 649 LELOUP, J., PETIT, F., BOUST, D., DELOFFRE, J., BALLY, G., CLARISSE, O., & QUILLET, L. (2005).
650 Dynamics of sulfate-reducing microorganisms (dsrAB genes) in two contrasting mudflats of the Seine estuary
651 (France). *Microbial Ecology*, 50(3), 307–314.
- 652 LI, C., QUAN, Q., GAN, Y., DONG, J., FANG, J., WANG, L. & LIU, J. (2020). Effects of heavy metals on
653 microbial communities in sediments and establishment of bioindicators based on microbial taxa and function
654 for environmental monitoring and management. *Science of the Total Environment*, 749, 1-9.
- 655 LI, F., HUANG, Y., HU, W., LI, Z., WANG, Q., HUANG, S., JIANG, F. & PAN, X. (2021a). Roseomonas
656 coralli sp. Nov., a heavy metal resistant bacterium isolated from coral. *International Journal of Systematic
657 and Evolutionary Microbiology*, 71(2), 1-7.
- 658 LI, X., WAN, W., ZHENG, L., WANG, A., LUO, X., HUANG, Q. & CHEN, W. (2021b). Community
659 assembly mechanisms and co-occurrence patterns of nitrite-oxidizing bacteria communities in saline soils.
660 *Science of the Total Environment*, 772(145472).
- 661 LI, Z., SOBEK, A. & RADKE, M. (2016). Fate of Pharmaceuticals and Their Transformation Products
662 in Four Small European Rivers Receiving Treated Wastewater. *Environmental Science and Technology*, 50,
663 5614-5621.
- 664 LIU, J. L. & WONG, M. H. (2013). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) : A review on
665 environmental contamination in China. *Environment International*, 59, 208-224.
- 666 LIU, X., PAN, J., LIU, Y., LI, M. & GU, J. D. (2018). Diversity and distribution of Archaea in global
667 estuarine ecosystems. *Science of the Total Environment*, 637-638, 349-358.
- 668 LIU, Z., LIN, S. & PIANTADOSI, S. (2015). Network construction and structure detection with metagenomic
669 count data. *BioData Mining*, 8(40), 1-14.

- 670 LLADÓ, S., COVINO, S., SOLANAS, A. M., PETRUCCIOLI, M., D'ANNIBALE, A. & VIÑAS, M. (2015).
671 Pyrosequencing reveals the effect of mobilizing agents and lignocellulosic substrate amendment on microbial
672 community composition in a real industrial PAH-polluted soil. *Journal of Hazardous Materials*, 283, 35-43.
- 673 LORENZEN, C. J. (1967). Determination of chlorophyll and phaeo-pigments : Spectrophotometric equations.
674 *Limnology and Oceanography 60th Anniversary Special Collection*, 12(2), 343-346.
- 675 LOZUPONE, C. A. & KNIGHT, R. (2007). Global patterns in bacterial diversity. *Proceedings of the National
676 Academy of Sciences*, 104(27), 11436-11440.
- 677 LÜCKER, S., WAGNER, M., MAIXNER, F., PELLETIER, E., KOCH, H., VACHERIE, B., RATTEI, T., DAM-
678 STÉ, J. S., SPIECK, E., LE PASLIER, D. & DAIMS, H. (2010). A *Nitrospira* metagenome illuminates
679 the physiology and evolution of globally important nitrite-oxidizing bacteria. *Proceedings of the National
680 Academy of Sciences of the United States of America*, 107(30), 13479-13484.
- 681 MCGENITY, T. J., FOLWELL, B. D., MCKEW, B. A. & SANNI, G. O. (2012). Marine crude-oil biodegra-
682 dation : a central role for interspecies interactions. *Aquatic Biosystems*, 8(10), 1-19.
- 683 MEHRANI, M. J., SOBOTKA, D., KOWAL, P., CIESIELSKI, S. & MAKINIA, J. (2020). The occurrence and
684 role of *Nitrospira* in nitrogen removal systems. *Bioresource Technology*, 303, 122936.
- 685 MEI, R., NOBU, M. K., NARIHIRO, T. & LIU, W.-T. (2020). Metagenomic and Metatranscriptomic
686 Analyses Revealed Uncultured Bacteroidales Populations as the Dominant Proteolytic Amino Acid Degrad-
687 ers in Anaerobic Digesters. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2763.
- 688 MENG, L., LIU, H., LAN, T., DONG, L., HU, H., ZHAO, S., ZHANG, Y., ZHENG, N. & WANG, J. (2020).
689 Antibiotic Resistance Patterns of *Pseudomonas* spp. Isolated From Raw Milk Revealed by Whole Genome
690 Sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 11(1005), 1-10.
- 691 MISSON, B., GARNIER, C., LAUGA, B., DANG, D. H., GHIGLIONE, J. F., MULLOT, J. U., DURAN,
692 R. & PRINGAULT, O. (2016). Chemical multi-contamination drives benthic prokaryotic diversity in the
693 anthropized Toulon Bay. *Science of the Total Environment*, 556, 319-329.
- 694 MOLARI, M., JANSSEN, F., VONNAHME, T. R., WENZHÖFER, F. & BOETIUS, A. (2020). The contribution
695 of microbial communities in polymetallic nodules to the diversity of the deep-sea microbiome of the Peru
696 Basin (4130-4198m depth). *Biogeosciences*, 17(12), 3203-3222.

- 697 MURALI, A., BHARGAVA, A. & WRIGHT, E. S. (2018). IDTAXA : A novel approach for accurate taxonomic
698 classification of microbiome sequences. *Microbiome*, 6(1).
- 699 MUSTAFA, K. K., MAULUD, S. Q. & HAMAD, P. A. (2018). Detection of *Sphingomonas paucimobilis* and
700 antibacterial activity of *Prosopis farcta* extracts on it. *Karbala International Journal of Modern Science*,
701 4(1), 100-106.
- 702 NAKAGAWA, S., TAKAI, K., INAGAKI, F., HIRAYAMA, H., NUNOURA, T., HORIKOSHI, K. & SAKO, Y.
703 (2005). Distribution, phylogenetic diversity and physiological characteristics of epsilon-Proteobacteria in a
704 deep-sea hydrothermal field. *Environmental Microbiology*, 7(10), 1619-1632.
- 705 NEWMAN, M. E. (2004). Fast algorithm for detecting community structure in networks. *Physical Review E*
706 - *Statistical Physics, Plasmas, Fluids, and Related Interdisciplinary Topics*, 69 (6 Pt 2), 066133.
- 707 NÖLVAK, H., TRUU, M., OOPKAUP, K., KANGER, K., KRUSTOK, I., NEHRENHEIM, E. & TRUU, J. (2018).
708 Reduction of antibiotic resistome and integron-integrase genes in laboratory-scale photobioreactors treating
709 municipal wastewater. *Water Research*, 142, 363-372.
- 710 NOUHA, K., KUMAR, R. S. & TYAGI, R. D. (2016). Heavy metals removal from wastewater using extracellu-
711 lar polymeric substances produced by *Cloacibacterium normanense* in wastewater sludge supplemented with
712 crude glycerol and study of extracellular polymeric substances extraction by different methods. *Bioresource*
713 *Technology*, 212, 120-129.
- 714 OBIMAKINDE, S., FATOKI, O., OPEOLU, B. & OLATUNJI, O. (2017). Veterinary pharmaceuticals in aqueous
715 systems and associated effects : an update. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(4), 3274-3297.
- 716 OKSANEN, J., BLANCHET, F. G., FRIENDLY, M., KINDT, R., LEGENDRE, P., MCGLINN, D., MINCHIN,
717 P. R., O'HARA, R. B., SIMPSON, G. L., SOLYMOS, P., STEVENS, M. H. H., SZOECES, E. & WAGNER,
718 H. (2020). vegan : Community ecology package.
- 719 OREN, A., DA COSTA, M. S., GARRITY, G. M., RAINEY, F. A., ROSSELLÓ-MÓRA, R., SCHINK, B.,
720 SUTCLIFFE, I., TRUJILLO, M. E. & WHITMAN, W. B. (2015). Proposal to include the rank of phylum in
721 the international code of nomenclature of prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary*
722 *Microbiology*, 65, 4284-4287.
- 723 OSIŃSKA, A., HARNISZ, M. & KORZENIEWSKA, E. (2016). Prevalence of plasmid-mediated multi-

- 724 drug resistance determinants in fluoroquinolone-resistant bacteria isolated from sewage and surface
725 water. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(11), 10818-10831.
- 726 PAISSÉ, S., COULON, F., GOÑI-URRIZA, M., PEPPERZAK, L., MCGENITY, T. J. & DURAN, R. (2008).
727 Structure of bacterial communities along a hydrocarbon contamination gradient in a coastal sediment.
728 *FEMS Microbiology Ecology*, 66, 295-305.
- 729 PALOMO, A., JANE FOWLER, S., GÜLAY, A., RASMUSSEN, S., SICHERITZ-PONTEN, T. & SMETS, B. F.
730 (2016). Meta-genomic analysis of rapid gravity sand filter microbial communities suggests novel physiology
731 of *Nitrospira* spp. *ISME Journal*, 10(11), 2569-2581.
- 732 PALOMO, A., PEDERSEN, A. G., FOWLER, S. J., DECHESNE, A., SICHERITZ-PONTÉN, T. & SMETS, B. F.
733 (2018). Comparative genomics sheds light on niche differentiation and the evolutionary history of comammox
734 *Nitrospira*. *ISME Journal*, 12(7), 1779-1793.
- 735 PARADA, A. E., NEEDHAM, D. M. & FUHRMAN, J. A. (2016). Every base matters : Assessing small
736 subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples.
737 *Environmental Microbiology*, 18(5), 1403-1414.
- 738 PASCUAL, J., GARCÍA-LÓPEZ, M., GONZÁLEZ, I. & GENILLOUD, O. (2017). *Luteolibacter gellanilyticus* sp.
739 Nov., a gellan-gum-degrading bacterium of the phylum verrucomicrobia isolated from miniaturized diffusion
740 chambers. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(10), 3951-3959.
- 741 PETROVSKI, S., RICE, D. T., BATINOVIC, S., NITTAMI, T. & SEVIOUR, R. J. (2020). The community
742 compositions of three nitrogen removal wastewater treatment plants of different configurations in Victoria,
743 Australia, over a 12-month operational period. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(22), 9839-9852.
- 744 POHLNER, M., DLUGOSCH, L., WEMHEUER, B., MILLS, H., ENGELEN, B. & REESE, B. K. (2019).
745 The majority of active Rhodobacteraceae in marine sediments belong to uncultured genera : A molecular
746 approach to link their distribution to environmental conditions. *Frontiers in Microbiology*, 10(APR), 659.
- 747 POINT, D. (2004). Spéciation et biogéochimie des éléments traces métalliques dans l'estuaire de l'Adour. (PhD
748 Thesis). University of Pau, France. POMMIER, T., CANBÄCK, B., RIEMANN, L., BOSTRÖM, K. H., SIMU,
749 K., LUNDBERG, P., TUNLID, A. & HAGSTRÖM, Å. (2007). Global patterns of diversity and community
750 structure in marine bacterioplankton. *Molecular Ecology*, 16(4), 867-880.

- 751 POUWELS, K. B., FREEMAN, R., MULLER-PEBODY, B., ROONEY, G., HENDERSON, K. L., ROBOTHAM,
752 J. V. & SMIESZEK, T. (2018). Association between use of different antibiotics and trimethoprim resistance :
753 Going beyond the obvious crude association. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(6), 1700-1707.
- 754 PRINGAULT, O., DURAN, R., JACQUET, S. & TORRÉTON, J. P. (2008). Temporal variations of microbial
755 activity and diversity in marine tropical sediments (New Caledonia Lagoon). *Microbial Ecology*, 55(2), 247-
756 258.
- 757 PRINGAULT, O., VIRET, H. & DURAN, R. (2010). Influence of microorganisms on the removal of nickel in
758 tropical marine sediments (New Caledonia). *Marine Pollution Bulletin*, 61(7-12), 530-541.
- 759 PRINGAULT, O., VIRET, H. & DURAN, R. (2012). Interactions between Zn and bacteria in marine tropical
760 coastal sediments. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(3), 879-892.
- 761 QI, X. E., WANG, C., HE, T., DING, F., LI, A., ZHANG, X., AN, L. & XU, S. (2021). Changes in
762 alpine grassland type drive niche differentiation of nitrifying communities on the Qinghai Tibetan Plateau.
763 *European Journal of Soil Biology*, 104, 103316.
- 764 QUAST, C., PRUESSE, E., YILMAZ, P., GERKEN, J., SCHWEER, T., YARZA, P., PEPLIES, J. & GLÖCKNER,
765 F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project : Improved data processing and web-based
766 tools. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D590-D596.
- 767 QUINCE, C., LANZEN, A., DAVENPORT, R. J. & TURNBAUGH, P. J. (2011). Removing Noise From Pyro-
768 sequenced Amplicons. *BMC Bioinformatics*, 12(1), 38.
- 769 R CORE TEAM. (2020). R : A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for
770 Statistical Computing.
- 771 RAMOND, J. B., BERTHE, T., LAFITE, R., DELOFFRE, J., OUDDANE, B., & PETIT, F. (2008). Relation-
772 ships between hydrosedimentary processes and occurrence of mercury-resistant bacteria (*merA*) in estuary
773 mudflats (Seine, France). *Marine Pollution Bulletin*, 56(6), 1168–1176.
- 774 RIGONATO, J., GAMA, W. A., ALVARENGA, D. O., BRANCO, L. H. Z., BRANDINI, F. P., GENUÁRIO,
775 D. B. & FIORE, M. F. (2016). *Aliterella atlantica* gen. nov., sp. nov., and *Aliterella antarctica* sp. nov.,
776 novel members of coccoid Cyanobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*,
777 66(8), 2853-2861.

- 778 ROBERTO, A. A., VAN GRAY, J. B. & LEFF, L. G. (2018). Sediment bacteria in an urban stream :
779 Spatiotemporal patterns in community composition. *Water Research*, 134, 353-369.
- 780 RODRIGUEZ-MOZAZ, S., VAZ-MOREIRA, I., VARELA DELLA GIUSTINA, S., LLORCA, M., BARCELÓ, D.,
781 SCHUBERT, S., BERENDONK, T. U., MICHAEL-KORDATOU, I., FATTA-KASSINOS, D., MARTINEZ, J. L.,
782 ELPERS, C., HENRIQUES, I., JAEGER, T., SCHWARTZ, T., PAULSHUS, E., O'SULLIVAN, K., PÄRNÄNEN,
783 K. M., VIRTÄ, M., DO, T. T., WALSH, F., & MANAIA, C. M. (2020). Antibiotic residues in final
784 effluents of European wastewater treatment plants and their impact on the aquatic environment. *Environment*
785 *International*, 140, 105733.
- 786 SAITOH, S., SUZUKI, T. & NISHIMURA, Y. (1998). Proposal of *Craurococcus roseus* gen. nov., sp. nov. and
787 *Para- craurococcus ruber* gen. nov., sp. nov., novel aerobic bacteriochlorophyll a-containing bacteria from
788 soil. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 48(3), 1043-1047.
- 789 SCHINK, B. & PFENNIG, N. (1982). *Propionigenium modestum* gen. nov. sp. nov. a new strictly anaerobic,
790 nonsporing bacterium growing on succinate. *Archives of Microbiology*, 133(3), 209-216.
- 791 SCHUMANN, P. & PUKALL, R. (2017). *Leucobacter weissii* sp. Nov., an isolate from activated sludge once
792 described as first representative of the peptidoglycan variation B2 , and emended description of the genus
793 *leucobacter*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(12), 5244-52351.
- 794 SHAH, S. Q., CABELLO, F. C., L'ABÉE-LUND, T. M., TOMOVA, A., GODFREY, H. P., BUSCHMANN,
795 A. H. & SØRUM, H. (2014). Antimicrobial resistance and antimicrobial resistance genes in marine bacteria
796 from salmon aquaculture and non-aquaculture sites. *Environmental Microbiology*, 16(5), 1310-1320.
- 797 SHE, C. X., ZHANG, Z. C., CADILLO-QUIROZ, H. & TONG, C. (2016). Factors regulating community
798 composition of methanogens and sulfate-reducing bacteria in brackish marsh sediments in the Min River
799 estuary, sou- theastern China. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 181, 27-38.
- 800 SHI, H., YANG, Y., LIU, M., YAN, C., YUE, H. & ZHOU, J. (2014). Occurrence and distribution of
801 antibiotics in the surface sediments of the Yangtze Estuary and nearby coastal areas. *Marine Pollution*
802 *Bulletin*.
- 803 SORGEN, A., JOHNSON, J., LAMBIRTH, K., CLINTON, S. M., REDMOND, M., FODOR, A., & GIBAS, C.
804 (2021). Characterization of environmental and cultivable antibiotic-resistant microbial communities associa-

- 805 ted with wastewater treatment. *Antibiotics*, 10(4), 352.
- 806 STEIN, L. Y., LA DUC, M. T., GRUND, T. J. & NEALSON, K. H. (2001). Bacterial and archaeal populations
807 associated with freshwater ferromanganous micronodules and sediments. *Environmental Microbiology*, 3(1),
808 10-18.
- 809 STOICHEV, T., AMOUROUX, D., WASSERMAN, J. C., POINT, D., DE DIEGO, A., BAREILLE, G. &
810 DONARD, O. F. (2004). Dynamics of mercury species in surface sediments of a macrotidal estuarine-coastal
811 system (Adour River, Bay of Biscay). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 59(3), 511-521.
- 812 STROUD, J. L., LOW, A., COLLINS, R. N. & MANEFIELD, M. (2014). Metal(loid) bioaccessibility dictates
813 microbial community composition in acid sulfate soil horizons and sulfidic drain sediments. *Environmental*
814 *Science and Technology*, 48(15), 8514-8521.
- 815 SU, X. L., TIAN, Q., ZHANG, J., YUAN, X. Z., SHI, X. S., GUO, R. B. & QIU, Y. L. (2014). Aceto-
816 bacteroides hydrogenigenes gen. nov., Sp. nov., An anaerobic hydrogen-producing bacterium in the family
817 Rikenellaceae isolated from a reed swamp. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbio-*
818 *logy*, 64(Pt_9), 2986-2991.
- 819 \textsc{Suhadolnik, M. L., Salgado, A. P., Scholte, L. L., Bleicher, L., Costa, P. S., Reis, M. P., Dias, M. F.,
820 Ávila, M. P., Barbosa, F. A., Chartone-Souza, E. & Nascimento, A. M. (2017). Novel arsenic-transforming
821 bacteria and the diversity of their arsenic-related genes and enzymes arising from arsenic-polluted freshwater
822 sediment. *Scientific Reports*, 7(1), 1-17.
- 823 SUN, M. Y., DAFFORN, K. A., BROWN, M. V. & JOHNSTON, E. L. (2012). Bacterial communities are
824 sensitive indicators of contaminant stress. *Marine Pollution Bulletin*, 64(5), 1029-1038.
- 825 SUN, F., XU, Z., & FAN, L. (2021). Response of heavy metal and antibiotic resistance genes and related
826 microorga- nisms to different heavy metals in activated sludge. *Journal of Environmental Management*,
827 300(113754).
- 828 SYROVA, E., KOHOUTOVA, L., DOLEJSKA, M., PAPEZIKOVA, I., KUTILOVA, I., CIZEK, A., NAVRATIL, S.,
829 MINAROVA, H. & PALIKOVA, M. (2018). Antibiotic resistance and virulence factors in mesophilic *Aeromonas*
830 spp. from Czech carp fisheries. *Journal of Applied Microbiology*, 125(6), 1702-1713.
- 831 SZABÓ, E., LIÉBANA, R., HERMANSSON, M., MODIN, O., PERSSON, F. & WILÉN, B. M. (2017). Microbial

- 832 population dynamics and ecosystem functions of anoxic/aerobic granular sludge in sequencing batch reactors
833 operated at different organic loading rates. *Frontiers in Microbiology*, 8(MAY).
- 834 TALESKI, V., DIMKIC, I., BOEV, B., BOEV, I., ŽIVKOVI, S. & STANKOVI, S. (2020). Bacterial and fungal
835 diversity in the lorandite (TlAsS₂) mine 'Allchar' in the Republic of North Macedonia. *FEMS Microbiology*
836 *Ecology*, 96 (9).
- 837 TRAN, J. H. & Jacoby, G. A. (2002). Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proceedings of*
838 *the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(8), 5638-5642.
- 839 TROJAN, D., SCHREIBER, L., BJERG, J. T., BØGGILD, A., YANG, T., KJELDSSEN, K. U. & SCHRAMM,
840 A. (2016). A taxonomic framework for cable bacteria and proposal of the candidate genera *Electrothrix* and
841 *Electronema*. *Systematic and Applied Microbiology*, 39(5), 297-306.
- 842 VAZ-MOREIRA, I., NUNES, O. C. & MANAIA, C. M. (2011). Diversity and antibiotic resistance patterns
843 of Sphingomonadaceae isolates from drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(16), 5697-
844 5706.
- 845 VERCRAENE-EAIRMAL, M., LAUGA, B., SAINT LAURENT, S., MAZZELLA, N., BOUTRY, S., SIMON, M.,
846 KARAMA, S., DELMAS, F. & DURAN, R. (2010). Diuron biotransformation and its effects on biofilm bacterial
847 community structure. *Chemosphere*, 81(7), 837-843.
- 848 VIDAL-DURÀ, A., BURKE, I. T., MORTIMER, R. J. & STEWART, D. I. (2018). Diversity patterns of benthic
849 bacterial communities along the salinity continuum of the Humber estuary (UK). *Aquatic Microbial Ecology*,
850 81(3), 277-291.
- 851 WAITE, D. W., CHUVOCHINA, M., PELIKAN, C., PARKS, D. H., YILMAZ, P., WAGNER, M., LOY,
852 A., NAGANUMA, T., NAKAI, R., WHITMAN, W. B., HAHN, M. W., KUEVER, J. & HUGENHOLTZ,
853 P. (2020). Proposal to reclassify the proteobacterial classes Deltaproteobacteria and Oligoflexia, and the
854 phylum Thermodesulfobacteria into four phyla reflecting major functional capabilities. *International Journal*
855 *of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(11), 5972-6016.
- 856 WAN, X., GAO, Q., ZHAO, J., FENG, J., VAN NOSTRAND, J. D., YANG, Y. & ZHOU, J. (2020). Bio-
857 geographic patterns of microbial association networks in paddy soil within Eastern China. *Soil Biology and*
858 *Biochemistry*, 142,107696.

- 859 WANG, F., DONG, W., ZHAO, Z., WANG, H., LI, W., CHEN, G., WANG, F., ZHAO, Y., HUANG, J. &
860 ZHOU, T. (2021a). Heavy metal pollution in urban river sediment of different urban functional areas and its
861 influence on microbial community structure. *Science of the Total Environment*, 778(146383).
- 862 WANG, L., LIU, L., ZHENG, B., ZHU, Y. & WANG, X. (2013). Analysis of the bacterial community in the
863 two typical intertidal sediments of Bohai Bay, China by pyrosequencing. *Marine Pollution Bulletin*, 72(1),
864 181-187.
- 865 WANG, X., LU, L., ZHOU, X., TANG, X., KUANG, L., CHEN, J., SHAN, J., LU, H., QIN, H., ADAMS,
866 J. & WANG, B. (2021b). Niche Differentiation of Comammox Nitrospira in the Mudflat and Reclaimed
867 Agricultural Soils Along the North Branch of Yangtze River Estuary. *Frontiers in Microbiology*, 11.
- 868 WANG, M., SHA, C., WU, J., SU, J., WU, J., WANG, Q., TAN, J. & HUANG, S. (2021). Bacterial
869 community response to petroleum contamination in brackish tidal marsh sediments in the Yangtze River
870 Estuary, China. *Journal of Environmental Sciences*, 99, 160–167.
- 871 WATSON, S. J., CADE-MENUN, B. J., NEEDOBA, J. A., & PETERSON, T. D. (2018). Phosphorus forms
872 in sediments of a river-dominated estuary. *Frontiers in Marine Science*, 5(302).
- 873 WEBSTER, G., O'SULLIVAN, L. A., MENG, Y., WILLIAMS, A. S., SASS, A. M., WATKINS, A. J., PARKES,
874 R. J. & WEIGHTMAN, A. J. (2015). Archaeal community diversity and abundance changes along a natural
875 salinity gradient in estuarine sediments. *FEMS Microbiology Ecology*, 91(2), 1-18.
- 876 WEN, K., ZHOU, A., ZHANG, J., LIU, Z., WANG, G., LIU, W., WANG, A. & YUE, X. (2017). Cha-
877 racterization of biocarbon-source recovery and microbial community shifts from waste activated sludge by
878 conditioning with cornstover : Assessment of cellulosic compositions. *Scientific Reports*, 7(1), 1-11.
- 879 WHITMAN, W. B., OREN, A., CHUVOCHINA, M., DA COSTA, M. S., GARRITY, G. M., RAINEY, F. A.,
880 ROSSELLO- MORA, R., SCHINK, B., SUTCLIFFE, I., TRUJILLO, M. E. & VENTURA, S. (2018). Proposal of
881 the suffix -ota to denote phyla. Addendum to 'proposal to include the rank of phylum in the international
882 code of nomenclature of prokaryotes'. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*,
883 68(3), 967-969.
- 884 WILLEMS, ANNE. (2014). The family Comamonadaceae. In E. Rosenberg, E. F. DeLong, S. Lory, E. Sta-
885 ckebrandt, & F. Thompson (Eds.), *The prokaryotes : Alphaproteobacteria and betaproteobacteria* (Vol.

- 886 9783642301, pp. 777–851). Springer Berlin Heidelberg.
- 887 WILLEMS, A., BUSSE, J., GOOR, M., POT, B., FALSEN, E., JANTZEN, E., HOSTE, B., GILLIS, M., KERS-
888 TERS, K., AULING, G. & DE LEY, J. (1989). Hydrogenophaga, a new genus of hydrogen-oxidizing bacteria
889 that includes *Hydrogenophaga flava* comb. nov., *Hydrogenophaga palleronii*, *Hydrogenophaga pseudoflava*
890 and *Hydrogenophaga taeniospiralis*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 39(3), 319–333.
- 891 WILLIAMS, R. J., HOWE, A. & HOFMOCKEL, K. S. (2014). Demonstrating microbial co-occurrence pattern
892 analyses within and between ecosystems. *Frontiers in Microbiology*, 5(JULY), 358.
- 893 WUTHIEKANUN, V., AMORNCHAI, P., LANGLA, S., WHITE, N. J., DAY, N. P. J., LIMMATHUROTSAKUL,
894 D., & PEACOCK, S. J. (2015). Antimicrobial disk susceptibility testing of leptospira spp. using leptospira
895 vanaporn wuthiekanun (LVW) agar. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 93(2), 241–243.
- 896 XIA, N., XIA, X., ZHU, B., ZHENG, S. & ZHUANG, J. (2013). Bacterial diversity and community structure
897 in the sediment of the middle and lower reaches of the Yellow River, the largest turbid river in the world.
898 *Aquatic Microbial Ecology*, 71, 43-55.
- 899 XU, R., SUN, X., HAN, F., LI, B., XIAO, E., XIAO, T., YANG, Z. & SUN, W. (2020). Impacts of antimony
900 and arsenic co-contamination on the river sedimentary microbial community in an antimony-contaminated
901 river. *Science of the Total Environment*, 713.
- 902 YAN, Y. W., JIANG, Q. Y., WANG, J. G., ZHU, T., ZOU, B., QIU, Q. F. & QUAN, Z. X. (2018).
903 Microbial communities and diversities in mudflat sediments analyzed using a modified metatranscriptomic
904 method. *Frontiers in Microbiology*, 9(JAN).
- 905 YI, J., LO, L. S. H. & CHENG, J. (2020). Dynamics of Microbial Community Structure and Ecological
906 Functions in Estuarine Intertidal Sediments. *Frontiers in Marine Science*, 7(585970), 1-15.
- 907 YIN, H., NIU, J., REN, Y., CONG, J., ZHANG, X., FAN, F., XIAO, Y., ZHANG, X., DENG, J., XIE, M.,
908 HE, Z., ZHOU, J., LIANG, Y. & LIU, X. (2015). An integrated insight into the response of sedimentary
909 microbial communities to heavy metal contamination. *Scientific Reports*, 5(14266).
- 910 \textsc{Zhou, J., Deng, Y., Luo, F., He, Z. & Yanga, Y. (2011). Phylogenetic molecular ecological network
911 of soil microbial communities in response to elevated CO₂. *mBio*, 2(4).
- 912 ZINGER, L., AMARAL-ZETTLER, L. A., FUHRMAN, J. A., HORNER-DEVINE, M. C., HUSE, S. M., WELCH,

- 913 D. B., MARTINY, J. B., SOGIN, M., BOETIUS, A. & RAMETTE, A. (2011). Global patterns of bacterial
914 beta-diversity in seafloor and seawater ecosystems. *IPLoS ONE*, 6(9).
- 915 ZONG, Y., WU, M., LIU, X., JIN, Y., WANG, G. & LI, M. (2019). Chitinophaga lutea sp. nov., isolated
916 from arsenic- contaminated soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(7),
917 2114-2119.

1 Microbial community structure in estuarine sediments exposed to
2 geochemical gradients and micropollutants

3 Sandrine Veloso^{a, *}, David Amouroux^a, Laurent Lanceleur^b, Cristiana Cravo Laureau^a,
4 Mathilde Monperrus^b, Jonathan Deborde^b, Robert Duran^{a,*}

5 ^a*Université de Pau et des Pays de L'Adour, UMR5254, Hélioparc, 2 avenue Président Angot,*
6 *Pau, France*

7 ^b*Université de Pau et des Pays de L'Adour, 1 Allée Montaury, 64600 Anglet, France*

8 **Supplementary materials**

*. Corresponging Author

Email addresses : sandrine.veloso@univ-pau.fr (Sandrine Veloso), robert.duran@univ-pau.fr (Robert Duran)

TABLEAU S1 – Abiotic and physico-chemical properties of Adour Estuary site sediments.

Site	Tidal range	Water content (%)	Fraction < 50 μm (%)	Flow rates ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$)	Chlorophyll a ($\text{ug} \cdot \text{g}^{-1}$)	POC (%)	TC (%)	C/N	$\delta^{13}\text{C}$
Spring									
1	81	33.0	29.2	190.8	15.0	1.3	1.7	11.7	-27.5
2	81	51.6	58.1	190.8	17.8	1.9	2.4	12.2	-27.4
3	81	40.5	29.6	11.7	35.3	1.1	1.1	12.4	-27.2
4	81	53.2	67.9	11.7	75.3	3.5	3.4	10.9	-26.7
5	81	57.5	70.3	190.8	60.4	3.0	3.6	12.1	-27.1
6	83	59.4	65.1	223.9	20.1	2.6	3.3	11.6	-27.1
7	83	59.1	70.6	236.0	163.5	4.1	4.8	9.9	-26.5
8	83	47.2	32.1	236.0	31.3	0.9	1.1	10.9	-26.4
9	83	29.0	17.3	236.0	20.9	0.3	0.6	11.5	-27.1
10	81	64.7	65.9	190.8	32.2	3.2	4.4	11.1	-27.0
Summer									
1	97	33.0	59.4	96.1	8.3	3.3	2.9	12.6	-27.8
2	97	40.2	72.4	96.1	20.0	3.1	4.2	11.5	-27.1
3	97	23.1	41.5	16.1	11.7	1.6	1.7	12.4	-27.5
4	97	36.7	75.6	16.1	11.1	4.1	4.8	11.8	-27.3
5	99	29.7	70.1	86.2	25.5	2.9	3.5	11.7	-26.6
6	90	31.5	70.2	112.9	10.9	4.3	5.4	11.8	-27.3
7	90	32.4	57.5	131.2	39.8	8.0	8.3	13.4	-26.9
8	90	35.9	50.6	131.2	28.6	3.8	5.3	14.0	-26.9
9	90	28.7	44.7	131.2	19.2	5.1	5.5	12.8	-27.6
10	99	18.9	69.6	86.2	19.5	1.9	3.1	11.3	-26.5
Winter									
1	109	24.2	63.9	357.1	16.4	3.5	4.7	11.1	-28.3
2	109	39.7	67.0	357.1	12.5	2.5	3.6	10.9	-27.5
3	109	14.5	36.6	54.6	5.1	0.4	0.6	12.1	-27.2
4	109	31.6	46.2	54.6	9.2	1.0	1.7	11.0	-27.7
5	108	43.2	60.5	434.9	4.7	3.6	3.8	11.4	-27.8
6	103	30.9	60.1	316.5	3.7	4.0	5.0	9.8	-27.8
7	103	26.7	53.6	357.6	41.0	4.4	4.3	12.6	-27.5
8	103	29.8	46.1	357.6	12.0	1.9	2.5	11.8	-27.6
9	103	11.7	28.2	357.6	1.5	0.2	0.4	11.0	-27.5
10	108	44.7	70.8	434.9	14.8	2.7	4.2	8.9	-28.0

NA : Not Available; C/N : Carbon/Nitrogen ratio

TABLEAU S2 – Concentration profiles of metals in the sediment samples by season.

Compounds	units	Spring (n=10)	Summer (n=10)	Winter (n=10)
Ag	µg.g ⁻¹	< LOQ - 3 (1.8)	< LOQ - 1.1 (0.57)	< LOQ - 2.8 (1.4)
As	"	6.6 - 19 (13)	< LOQ - 17 (15)	8.2 - 15 (12)
Ba	"	< LOQ - 90 (59)	< LOQ - 88 (61)	< LOQ - 90 (68)
Cd	"	< LOQ - 2.7 (1.4)	< LOQ - 0.8 (0.59)	< LOQ - 1.6 (0.74)
Co	"	< LOQ - 15 (10)	7.5 - 16 (13)	< LOQ - 15 (11)
Cr	"	3.3 - 43 (27)	< LOQ - 60 (33)	< LOQ - 61 (29)
Cu	"	< LOQ - 87 (44)	< LOQ - 84 (35)	< LOQ - 210 (55)
Hg	ng.g ⁻¹	32 - 140 (75)	60 - 170 (93)	45 - 110 (70)
Mn	µg.g ⁻¹	200 - 870 (550)	400 - 1,100 (810)	< LOQ - 910 (620)
Mo	"	< LOQ - 45 (21)	< LOQ - 14 (2.5)	< LOQ - 28 (14)
Ni	"	< LOQ - 30 (19)	< LOQ - 33 (27)	7.6 - 32 (22)
Pb	"	< LOQ - 53 (34)	< LOQ - 71 (38)	< LOQ - 91 (37)
Sb	"	< LOQ - 1.7 (0.81)	< LOQ - 3.2 (1.1)	< LOQ - 1.2 (0.61)
Se	"	< LOQ - 5.8 (2.2)	< LOQ - 3.5 (2.6)	< LOQ - 5.5 (2)
Sn	"	< LOQ - 3.2 (1.8)	< LOQ - 10 (3.1)	< LOQ - 14 (3.9)
Sr	"	< LOQ - 110 (75)	< LOQ - 150 (96)	< LOQ - 120 (79)
Th	"	< LOQ - 6.9 (5.4)	< LOQ - 6.4 (5.1)	< LOQ - 6.4 (4.6)
Ti	"	63 - 810 (210)	< LOQ - 640 (110)	72 - 710 (330)
U	"	< LOQ - 0.87 (0.63)	< LOQ - 0.86 (0.69)	< LOQ - 0.78 (0.55)
V	"	6.8 - 39 (26)	< LOQ - 39 (31)	< LOQ - 32 (26)
Zn	"	170 - 800 (490)	66 - 540 (250)	120 - 690 (360)

LOQ : Limit of quantification

TABLEAU S3 – Concentration profiles of metals in the sediment samples by estuarine position.

Compounds	units	Upstream (n=6)	Middle (n=15)	Downstream (n=9)
Ag	µg.g ⁻¹	< LOQ - 2.2 (1.2)	< LOQ - 2.8 (1.1)	< LOQ - 3 (1.5)
As	"	8.2 - 16 (12)	< LOQ - 19 (15)	6.6 - 17 (11)
Ba	"	< LOQ - 90 (75)	< LOQ - 78 (62)	< LOQ - 90 (56)
Cd	"	< LOQ - 1.7 (0.86)	< LOQ - 2.2 (0.82)	< LOQ - 2.7 (1.1)
Co	"	8.2 - 15 (11)	< LOQ - 16 (14)	< LOQ - 9.3 (6.7)
Cr	"	< LOQ - 29 (24)	< LOQ - 36 (31)	3.3 - 61 (32)
Cu	"	< LOQ - 87 (38)	< LOQ - 210 (45)	< LOQ - 84 (48)
Hg	ng.g ⁻¹	52 - 71 (61)	55 - 100 (77)	32 - 170 (95)
Mn	µg.g ⁻¹	400 - 1,000 (640)	490 - 1,100 (840)	< LOQ - 560 (370)
Mo	"	< LOQ - 34 (9.9)	< LOQ - 31 (11)	< LOQ - 45 (16)
Ni	"	< LOQ - 31 (22)	< LOQ - 33 (27)	< LOQ - 23 (15)
Pb	"	< LOQ - 36 (27)	< LOQ - 41 (35)	< LOQ - 91 (45)
Sb	"	< LOQ - 1.2 (0.92)	< LOQ - 0.86 (0.55)	< LOQ - 3.2 (1.2)
Se	"	< LOQ - 3.3 (2.1)	< LOQ - 5.8 (2.6)	< LOQ - 5.5 (1.8)
Sn	"	< LOQ - 14 (3.6)	< LOQ - 3.1 (1.9)	< LOQ - 10 (4.2)
Sr	"	< LOQ - 100 (56)	41 - 150 (110)	39 - 85 (64)
Th	"	< LOQ - 5.9 (5.1)	< LOQ - 6.9 (6)	< LOQ - 5 (3.4)
Ti	"	< LOQ - 810 (240)	< LOQ - 710 (220)	31 - 630 (190)
U	"	< LOQ - 0.83 (0.66)	< LOQ - 0.87 (0.68)	< LOQ - 0.71 (0.51)
V	"	< LOQ - 30 (24)	< LOQ - 39 (33)	6.8 - 36 (22)
Zn	"	66 - 720 (360)	97 - 710 (350)	160 - 800 (410)

LOQ : Limit of quantification

TABLEAU S4 – Concentration profiles of pharmaceuticals in the sediment samples by season.

Compounds	units	Spring (n=10)	Summer (n=10)	Winter (n=10)
pharmaceuticals : NSAIDs				
Acetaminophen	ng.g ⁻¹	< LOQ - 0.46 (0.46)	< LOQ - 1.6 (0.57)	< LOQ - 9.1 (1.5)
Aspirin	"	0 - 210 (21)	0 - 190 (36)	0 - 500 (93)
Niflumic acid	"	< LOQ - 1.8 (0.66)	< LOQ - 0.49 (0.21)	< LOQ - 0.88 (0.25)
Ibuprofen	"	< LOQ - 5.2 (2)	< LOQ - 10 (3.2)	< LOQ - 8 (2.7)
Ketoprofen	"	< LOQ - 8.6 (2.7)	< LOQ - 2 (0.84)	< LOQ - 3.5 (1.2)
Phenazone	"	< LOQ - 0.46 (0.46)	< LOQ - 1.5 (0.65)	< LOQ - 0.46 (0.46)
pharmaceuticals : antibiotics				
Azithromycin	ng.g ⁻¹	< LOQ - 16 (5.4)	< LOQ - 14 (2.6)	< LOQ - 16 (4.3)
Ciprofloxacin	"	< LOQ - 13 (2.3)	< LOQ - 27 (7.4)	< LOQ - 230 (26)
Clarithromycin	"	< LOQ - 0.17 (0.074)	< LOQ - 0.12 (0.044)	< LOQ - 0.96 (0.25)
Doxycycline	"	< LOQ - 14 (4.3)	< LOQ - 9.4 (3.1)	< LOQ - 22 (4.2)
Josamycin	"	< LOQ - 0.33 (0.14)	< LOQ - 0.12 (0.12)	< LOQ - 0.12 (0.12)
Norfloxacin	"	< LOQ - 7.1 (2.8)	< LOQ - 13 (3.2)	< LOQ - 19 (5.4)
Ofloxacin	"	< LOQ - 11 (4.7)	< LOQ - 12 (3.8)	< LOQ - 18 (6.2)
Oxolinic acid	"	< LOQ - 26 (3.6)	< LOQ - 17 (3.2)	< LOQ - 21 (3.2)
Piperacillin	"	< LOQ - 0.66 (0.66)	< LOQ - 6.9 (1.6)	< LOQ - 1.8 (0.78)
Sulfamethazine	"	< LOQ - 0.26 (0.1)	< LOQ - 0.34 (0.11)	< LOQ - 0.085 (0.085)
Sulfamethoxazole	"	< LOQ - 0.28 (0.28)	< LOQ - 1 (0.41)	< LOQ - 0.28 (0.28)
Tetracycline	"	< LOQ - 6.5 (0.93)	< LOQ - 7.6 (1.3)	< LOQ - 7.2 (1.5)
Trimethoprim	"	< LOQ - 20 (5.4)	< LOQ - 3.7 (1)	< LOQ - 10 (1.7)
pharmaceuticals : anxiolytics				
Lorazepam	ng.g ⁻¹	< LOQ - 7.8 (3.9)	< LOQ - 7.2 (2.2)	< LOQ - 1.7 (1.7)
Nordazepam	"	< LOQ - 0.015 (0.015)	< LOQ - 0.015 (0.015)	< LOQ - 0.058 (0.019)
Oxazepam	"	< LOQ - 4.1 (1.4)	0.32 - 9.5 (2.9)	0.31 - 12 (2.2)
pharmaceuticals : cardiovascular drugs				
Atenolol	ng.g ⁻¹	< LOQ - 0.055 (0.055)	< LOQ - 0.27 (0.076)	< LOQ - 0.48 (0.098)
Losartan	"	< LOQ - 0.47 (0.25)	< LOQ - 0.53 (0.15)	< LOQ - 17 (1.9)
Metoprolol	"	< LOQ - 0.055 (0.055)	< LOQ - 0.22 (0.072)	< LOQ - 0.055 (0.055)
pharmaceuticals : others				
Amiodarone	ng.g ⁻¹	0 - 330 (41)	0 - 320 (40)	0 - 1,600 (300)
Cyclophosphamide	"	< LOQ - 0.08 (0.035)	< LOQ - 0.03 (0.03)	< LOQ - 0.099 (0.042)
Norethindrone	"	< LOQ - 110 (39)	< LOQ - 270 (79)	< LOQ - 30 (4.6)
Hydrochlorothiazide	"	< LOQ - 0.1 (0.1)	< LOQ - 0.1 (0.1)	< LOQ - 0.88 (0.28)
Gemfibrozil	"	< LOQ - 0.12 (0.12)	< LOQ - 0.36 (0.14)	< LOQ - 0.12 (0.12)
Carbamazepine	"	< LOQ - 0.49 (0.13)	< LOQ - 1.4 (0.22)	< LOQ - 1.8 (0.26)
Caffeine	"	< LOQ - 100 (22)	< LOQ - 10 (1.3)	< LOQ - 13 (3.4)

LOQ : Limit of quantification

TABLEAU S5 – Concentration profiles of pharmaceuticals in the sediment samples by estuarine position.

Compounds	units	Upstream (n=6)	Middle (n=15)	Downstream (n=9)
pharmaceuticals : NSAIDs				
Acetaminophen	ng.g ⁻¹	< LOQ - 2.1 (0.73)	< LOQ - 9.1 (1)	< LOQ - 1.6 (0.58)
Aspirin	"	0 - 210 (64)	0 - 500 (75)	0 - 1.1 (0.12)
Niflumic acid	"	< LOQ - 1.8 (0.45)	< LOQ - 1.1 (0.33)	< LOQ - 1.8 (0.4)
Ibuprofen	"	< LOQ - 10 (3.1)	< LOQ - 8 (2.9)	< LOQ - 4 (1.9)
Ketoprofen	"	< LOQ - 6.2 (1.9)	< LOQ - 3.4 (1.1)	< LOQ - 8.6 (2.2)
Phenazone	"	< LOQ - 1.5 (0.63)	< LOQ - 0.46 (0.46)	< LOQ - 1.4 (0.56)
pharmaceuticals : antibiotics				
Azithromycin	ng.g ⁻¹	< LOQ - 0.34 (0.34)	< LOQ - 11 (4.4)	< LOQ - 16 (6)
Ciprofloxacin	"	< LOQ - 21 (4.6)	< LOQ - 27 (4.4)	< LOQ - 230 (29)
Clarithromycin	"	< LOQ - 0.18 (0.055)	< LOQ - 0.96 (0.17)	< LOQ - 0.56 (0.098)
Doxycycline	"	< LOQ - 9.9 (3.9)	< LOQ - 14 (3.5)	< LOQ - 22 (4.3)
Josamycin	"	< LOQ - 0.12 (0.12)	< LOQ - 0.33 (0.13)	< LOQ - 0.12 (0.12)
Norfloxacin	"	< LOQ - 8 (3.3)	< LOQ - 13 (3.5)	< LOQ - 19 (4.5)
Ofloxacin	"	1.1 - 12 (5.3)	< LOQ - 18 (5.5)	< LOQ - 13 (3.7)
Oxolinic acid	"	< LOQ - 26 (11)	< LOQ - 2.6 (0.35)	< LOQ - 17 (3.4)
Piperacillin	"	< LOQ - 3.7 (1.2)	< LOQ - 0.66 (0.66)	< LOQ - 6.9 (1.5)
Sulfamethazine	"	< LOQ - 0.085 (0.085)	< LOQ - 0.085 (0.085)	< LOQ - 0.34 (0.13)
Sulfamethoxazole	"	< LOQ - 0.28 (0.28)	< LOQ - 1 (0.33)	< LOQ - 0.81 (0.34)
Tetracycline	"	< LOQ - 3.9 (0.96)	< LOQ - 7.2 (0.69)	< LOQ - 7.6 (2.4)
Trimethoprim	"	< LOQ - 20 (5.7)	< LOQ - 10 (2.1)	< LOQ - 10 (1.8)
pharmaceuticals : anxiolytics				
Lorazepam	ng.g ⁻¹	< LOQ - 7.2 (3.2)	< LOQ - 7.8 (2.6)	< LOQ - 5.1 (2)
Nordazepam	"	< LOQ - 0.015 (0.015)	< LOQ - 0.015 (0.015)	< LOQ - 0.058 (0.02)
Oxazepam	"	< LOQ - 1.4 (0.66)	0.52 - 12 (2.4)	< LOQ - 9.5 (2.8)
pharmaceuticals : cardiovascular drugs				
Atenolol	ng.g ⁻¹	< LOQ - 0.055 (0.055)	< LOQ - 0.48 (0.083)	< LOQ - 0.27 (0.079)
Losartan	"	< LOQ - 0.11 (0.11)	< LOQ - 17 (1.3)	< LOQ - 0.53 (0.29)
Metoprolol	"	< LOQ - 0.22 (0.082)	< LOQ - 0.055 (0.055)	< LOQ - 0.055 (0.055)
pharmaceuticals : others				
Amiodarone	ng.g ⁻¹	0 - 42 (7.8)	0 - 1,600 (110)	0 - 1,100 (220)
Cyclophosphamide	"	< LOQ - 0.03 (0.03)	< LOQ - 0.03 (0.03)	< LOQ - 0.099 (0.049)
Norethindrone	"	< LOQ - 210 (44)	< LOQ - 140 (30)	< LOQ - 270 (57)
Hydrochlorothiazide	"	< LOQ - 0.1 (0.1)	< LOQ - 0.88 (0.21)	< LOQ - 0.29 (0.13)
Gemfibrozil	"	< LOQ - 0.12 (0.12)	< LOQ - 0.12 (0.12)	< LOQ - 0.36 (0.14)
Carbamazepine	"	< LOQ - 0.23 (0.091)	< LOQ - 0.49 (0.13)	< LOQ - 1.8 (0.39)
Caffeine	"	< LOQ - 60 (11)	< LOQ - 38 (5.5)	< LOQ - 100 (14)

LOQ : Limit of quantification

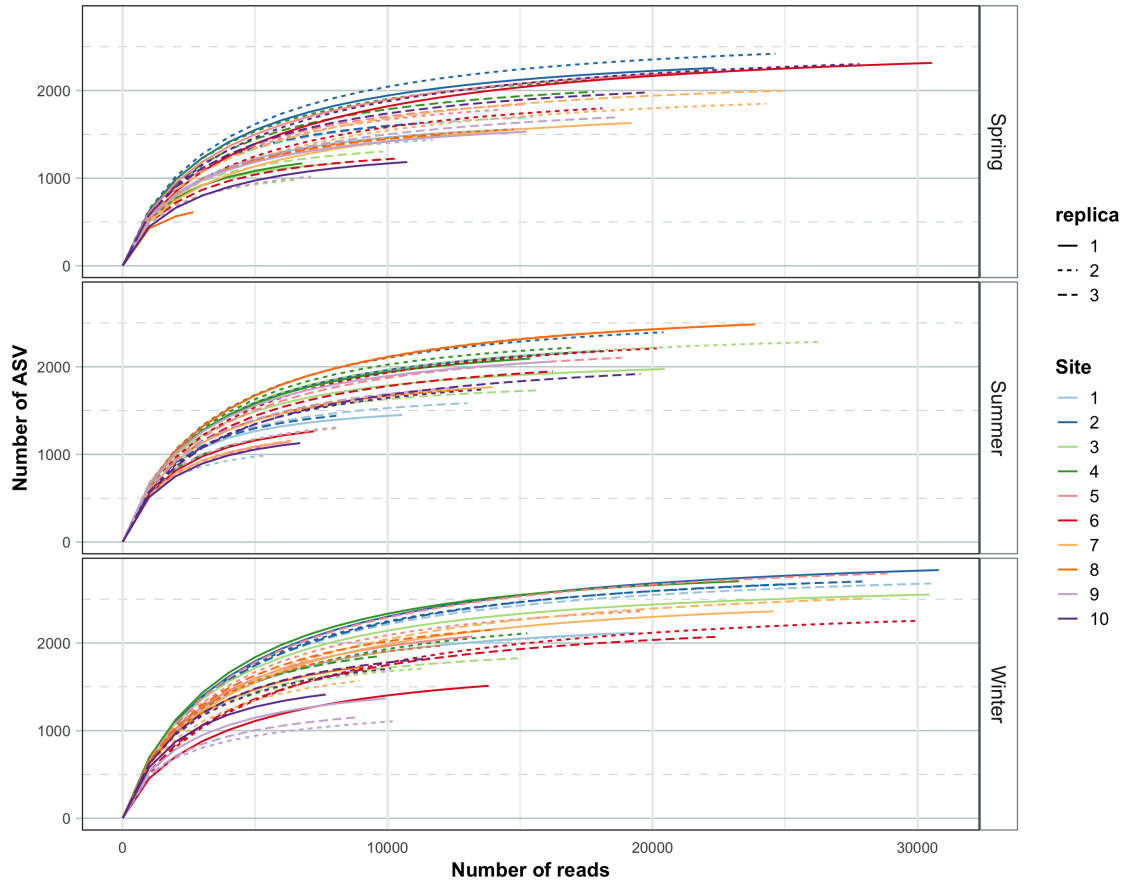


FIGURE S1 – **Microbial diversity**. Rarefaction curve sediment samples sorted by sampling campaign. Colors and line style (solid, dashed or dotted) indicated respectively sampling site and site replica.

TABLEAU S6 – **Microbial diversity**. Summary of Mi-Seq sequencing (mean \pm sd, per replicats) and alpha diversity indices per campaign of sediments samples.

Site	Bioinformatic pipeline filtration		Diversity index		
	Input reads	Filtered, denoised and merged sequences	Richness (R)	Chao1	Simpson (1 -D)
Spring					
1	32,081 (\pm 4,865)	15,348 (\pm 2,416)	1,566 (\pm 131)	1,664 (\pm 108)	0.995 (\pm 3e-03)
2	42,483 (\pm 15,749)	21,287 (\pm 7,849)	2,101 (\pm 419)	2,239 (\pm 438)	0.998 (\pm 3.7e-04)
3	23,914 (\pm 4,362)	11,921 (\pm 2,943)	1,154 (\pm 161)	1,277 (\pm 179)	0.998 (\pm 9.8e-04)
4	31,166 (\pm 13,468)	15,959 (\pm 7,187)	1,762 (\pm 518)	1,914 (\pm 516)	0.998 (\pm 6.6e-04)
5	36,107 (\pm 7,103)	18,693 (\pm 4,272)	1,946 (\pm 232)	2,109 (\pm 254)	0.997 (\pm 6.5e-05)
6	38,195 (\pm 18,827)	20,969 (\pm 10,929)	1,779 (\pm 546)	1,918 (\pm 583)	0.995 (\pm 3.1e-04)
7	45,503 (\pm 7,538)	25,252 (\pm 4,043)	1,826 (\pm 185)	1,963 (\pm 160)	0.996 (\pm 1.1e-03)
8	22,995 (\pm 13,356)	11,799 (\pm 7,367)	1,224 (\pm 530)	1,340 (\pm 539)	0.997 (\pm 9.5e-04)
9	31,562 (\pm 13,297)	15,771 (\pm 7,021)	1,414 (\pm 352)	1,554 (\pm 368)	0.997 (\pm 4.3e-04)
10	37,590 (\pm 16,689)	20,692 (\pm 9,317)	1,821 (\pm 575)	1,965 (\pm 605)	0.996 (\pm 2.4e-03)
Summer					
1	25,524 (\pm 8,604)	11,081 (\pm 4,160)	1,341 (\pm 313)	1,431 (\pm 311)	0.998 (\pm 4.6e-04)
2	43,849 (\pm 17,166)	22,763 (\pm 9,585)	2,005 (\pm 500)	2,152 (\pm 518)	0.998 (\pm 1.7e-04)
3	47,653 (\pm 12,157)	22,959 (\pm 5,940)	1,996 (\pm 278)	2,089 (\pm 282)	0.999 (\pm 9.9e-05)
4	33,199 (\pm 14,657)	16,027 (\pm 7,803)	1,837 (\pm 554)	1,959 (\pm 564)	0.998 (\pm 3.5e-04)
5	25,843 (\pm 16,630)	13,217 (\pm 9,088)	1,445 (\pm 570)	1,558 (\pm 579)	0.997 (\pm 1.5e-04)
6	32,127 (\pm 14,269)	15,832 (\pm 7,107)	1,807 (\pm 488)	1,962 (\pm 504)	0.997 (\pm 4.3e-04)
7	23,947 (\pm 9,233)	10,529 (\pm 4,298)	1,407 (\pm 320)	1,535 (\pm 319)	0.998 (\pm 2.9e-04)
8	46,364 (\pm 14,549)	23,329 (\pm 7,857)	2,235 (\pm 431)	2,382 (\pm 427)	0.998 (\pm 2.6e-05)
9	28,598 (\pm 8,365)	13,457 (\pm 4,321)	1,711 (\pm 376)	1,847 (\pm 389)	0.998 (\pm 3.7e-04)
10	32,916 (\pm 14,942)	17,489 (\pm 8,641)	1,595 (\pm 414)	1,735 (\pm 439)	0.997 (\pm 3.6e-04)
Winter					
1	47,582 (\pm 16,147)	24,697 (\pm 8,001)	2,292 (\pm 336)	2,409 (\pm 352)	0.997 (\pm 5.4e-04)
2	57,248 (\pm 5,898)	31,072 (\pm 3,116)	2,736 (\pm 85)	2,865 (\pm 80)	0.998 (\pm 5.8e-05)
3	41,389 (\pm 22,095)	20,970 (\pm 11,552)	2,029 (\pm 457)	2,147 (\pm 457)	0.999 (\pm 1.9e-04)
4	37,947 (\pm 20,169)	17,695 (\pm 7,466)	2,222 (\pm 437)	2,376 (\pm 407)	0.998 (\pm 5e-05)
5	40,410 (\pm 16,489)	22,529 (\pm 8,745)	2,410 (\pm 361)	2,565 (\pm 330)	0.998 (\pm 9.9e-05)
6	41,078 (\pm 14,859)	23,888 (\pm 8,812)	1,946 (\pm 387)	2,110 (\pm 365)	0.983 (\pm 5.8e-03)
7	42,716 (\pm 21,508)	23,536 (\pm 11,430)	2,146 (\pm 505)	2,296 (\pm 494)	0.998 (\pm 1.8e-04)
8	24,328 (\pm 4,703)	12,945 (\pm 2,632)	1,950 (\pm 211)	2,116 (\pm 193)	0.998 (\pm 1.1e-04)
9	20,660 (\pm 2,055)	10,664 (\pm 870)	1,209 (\pm 139)	1,354 (\pm 133)	0.997 (\pm 1.5e-04)
10	20,001 (\pm 4,224)	10,688 (\pm 2,144)	1,648 (\pm 212)	1,784 (\pm 202)	0.997 (\pm 4.2e-04)

TABLEAU S7 – **Microbial community composition.** Relative abundance of *Bacteroidota* classes and orders (**Class** > **Order**) in Adour sediments. NA designed Not Assigned sequences.

	Bacteroidia > Bacteroidales	Bacteroidia > Bacteroidetes VC2.1 Bac22	Bacteroidia > Chitinophagales	Bacteroidia > Cytophagales	Bacteroidia > Flavobacteriales	Bacteroidia > Sphingobacteriales	Bacteroidia > NA	Ignavibacteria > Ignavibacteriales	Kapabacteria > Kapabacteria	Kryptonia > Kryptoniales	SJA-28 > NA	NA	Bacteroidota sum
Spring													
1	4.28	0.00	4.07	2.75	3.09	0.68	1.45	1.15	0.11	0.09	0.28	0.04	18.0
2	5.69	0.27	3.62	4.28	7.62	2.93	3.05	1.02	0.23	0.21	0.05	0.00	29.0
3	0.48	0.01	8.59	6.15	3.91	3.06	2.06	0.09	0.13	0.10	0.01	0.04	24.6
4	2.65	0.15	4.59	4.13	13.75	1.96	2.51	0.78	0.38	0.12	0.07	0.03	31.1
5	4.82	0.70	4.06	4.29	17.19	2.49	3.40	0.50	0.16	0.15	0.01	0.00	37.8
6	3.58	1.16	2.94	2.08	25.23	1.65	4.04	0.78	0.21	0.03	0.05	0.01	41.8
7	4.83	0.26	3.22	6.07	20.22	0.74	3.72	0.54	0.15	0.06	0.03	0.00	39.8
8	3.81	0.59	3.24	3.50	23.31	1.10	4.51	1.65	0.11	0.07	0.00	0.00	41.9
9	1.57	0.20	3.68	4.59	20.16	0.78	4.12	1.83	0.03	0.01	0.00	0.00	37.0
10	3.05	0.05	5.03	1.93	10.62	1.22	1.93	0.87	0.11	0.07	0.09	0.05	25.0
Summer													
1	2.54	0.00	5.11	4.33	2.97	2.20	1.77	0.75	0.04	0.18	0.18	0.02	20.1
2	3.29	0.31	4.45	5.82	10.36	2.14	3.56	0.90	0.27	0.21	0.00	0.01	31.3
3	4.60	0.00	5.02	3.56	3.20	2.54	3.16	0.30	0.08	0.19	0.11	0.03	22.8
4	3.68	0.36	5.04	6.00	12.44	1.79	3.42	0.53	0.29	0.16	0.01	0.00	33.7
5	3.58	0.73	4.93	6.09	14.81	1.42	3.79	0.59	0.21	0.17	0.04	0.00	36.4
6	3.62	0.70	4.40	4.60	17.31	1.39	4.42	0.67	0.24	0.11	0.03	0.09	37.6
7	7.40	0.56	2.18	3.37	10.92	0.74	4.34	1.11	0.17	0.01	0.04	0.00	30.8
8	3.56	0.54	4.27	4.17	12.76	0.78	5.99	0.73	0.32	0.08	0.06	0.00	33.3
9	5.39	0.89	2.69	3.86	12.94	0.77	4.52	1.63	0.31	0.07	0.08	0.01	33.1
10	3.65	0.46	4.14	4.42	13.16	1.42	3.51	0.85	0.15	0.12	0.03	0.03	32.0
Winter													
1	3.05	0.00	5.72	3.87	7.03	2.79	2.34	0.18	0.00	0.25	0.08	0.00	25.3
2	4.46	0.01	7.34	4.14	9.72	3.42	3.04	0.29	0.15	0.18	0.08	0.08	32.9
3	2.80	0.00	6.33	4.56	4.80	2.22	2.11	0.33	0.16	0.24	0.14	0.03	23.7
4	5.44	0.16	5.39	3.62	9.56	3.10	2.05	0.32	0.07	0.12	0.00	0.13	30.0
5	4.22	0.04	6.32	3.63	11.83	3.26	2.57	0.30	0.07	0.14	0.05	0.07	32.5
6	6.60	0.00	5.43	2.25	13.26	2.85	2.60	0.20	0.11	0.03	0.06	0.00	33.4
7	3.01	0.09	8.48	5.51	14.80	2.91	3.32	0.42	0.07	0.04	0.00	0.01	38.7
8	3.97	0.25	8.22	3.47	13.58	2.22	2.96	0.40	0.10	0.06	0.03	0.01	35.3
9	5.50	0.23	2.40	1.60	8.13	1.19	1.28	3.59	0.05	0.07	0.11	0.02	24.2
10	4.20	0.01	6.54	4.03	9.77	3.14	2.50	0.29	0.14	0.09	0.07	0.09	30.9
Mean	3.98	0.29	4.91	4.09	11.95	1.96	3.13	0.79	0.15	0.11	0.06	0.03	31.5

TABLEAU S8 – Characteristics of Adour sediments microbial communities network. Topological properties of empirical network MENs of microbial communities in Adour sediment and their associated random MENs.

Empirical network indexes	
	Estuaine Sediment, all campaigns
Network size (n)	347
R ² of power law	0.944
average connectivity (avgK)	2.329
average path distance (GD)	6.421
average clustering coefficient (avgCC)	0.022
Modularity (M)	0.779
100 random network indexes	
average path distance (GD)	5.517 ± 0.150
average clustering coefficient (avgCC)	0.006 ± 0.003
Modularity (M)	0.739 ± 0.008

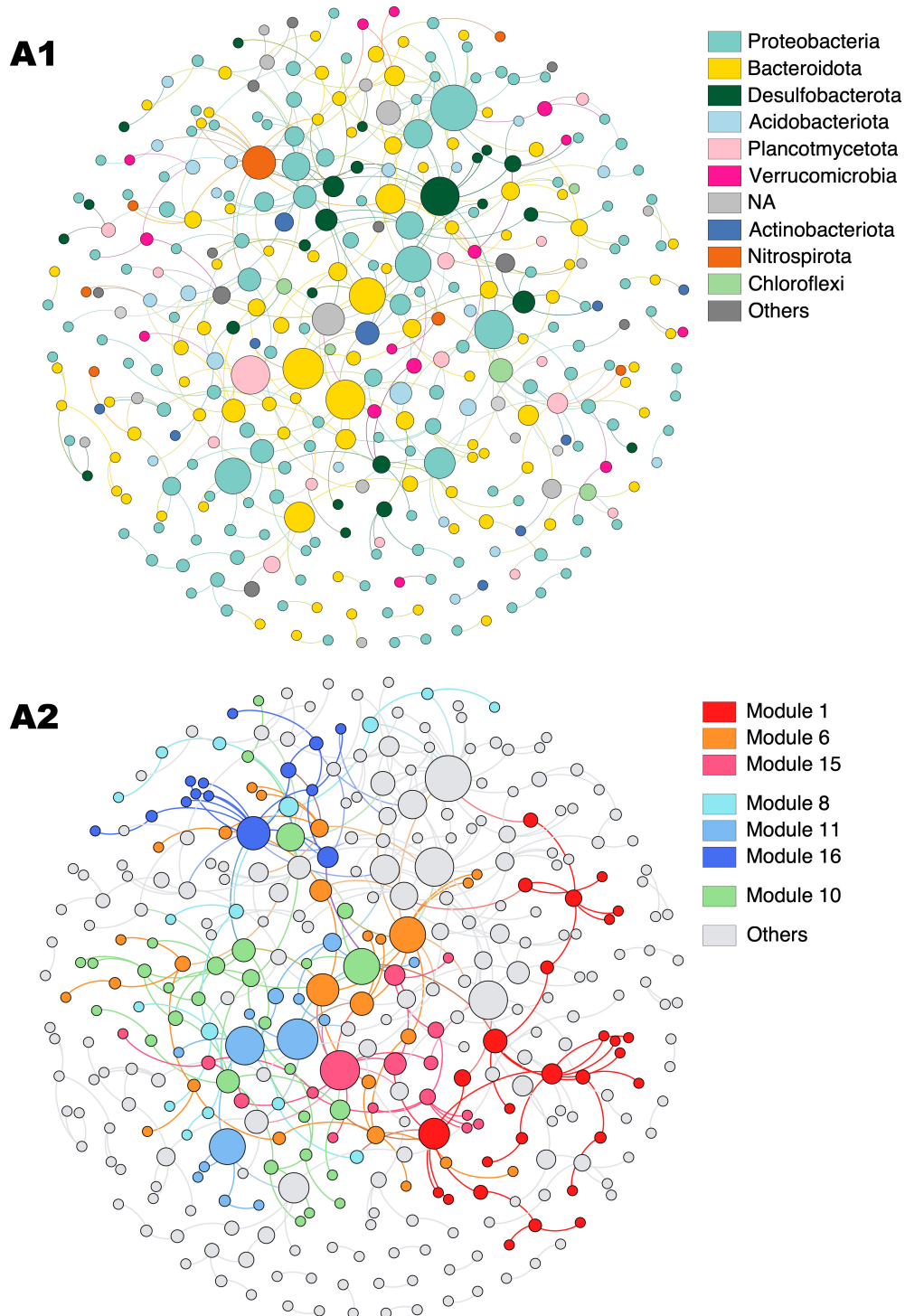


FIGURE S2 – **Global Adour sediments microbial communities network representation.** Each node corresponds to an ASV, node size is proportional to the node betweenness. Networks are colored according to phylum (A1) where NA designated not assigned sequences and Other, ASV not assigned sequences and phyla with abundance below 1% or (A2) modules, where modules significantly positively correlated with environmental parameters selected are identified in colors and Others designated nodes who do not belong to these modules.

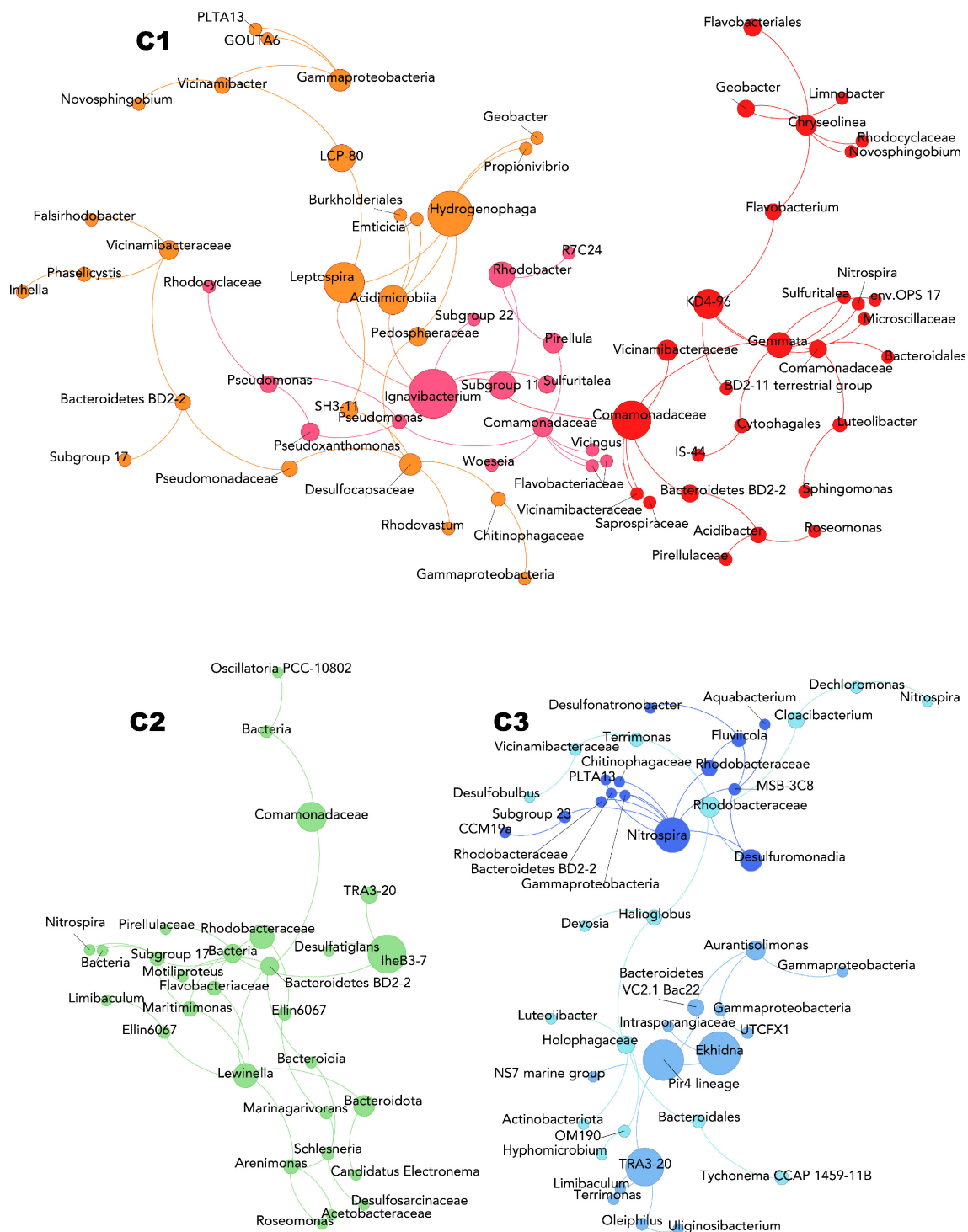


FIGURE S3 – Adour sediments microbial communities modules representation. Visualization of selected modules correlated to trimethoprim and oxolinic acid (C1), to Mn (C2) and to As (C3) illustrating ASVs within each module and their interactions. Each node corresponds to an ASV, node size is proportional to the node betweenness. Modules are identified by colors where module 1, 6, 15, 10, 8, 11, and 16 were respectively red, orange, pink, green, cyan, light blue and royal blue.

4.3 Conclusion

Cette première des communautés microbiennes colonisant l'estuaire de l'Adour, nous nous sommes focalisés sur les matrices sédimentaires. Les communautés microbiennes présentent une composition microbienne très largement dominée par des phylums microbiens ubiquitaires et retrouvé fréquemment en milieu estuarien (**Proteobacteria** et **Bacteroidetes**). La structuration de ces communautés dans le temps et l'espace est, fortement influencées par la **saison** (hivernale) et la **position le long de l'estuaire** séparant très nettement les sites situés en amont, au cœur et dans la partie le plus aval de l'estuaire. Cette zone aval correspond aux sites 7, 8 et 9 situés dans la zone urbaine et à proximité du rejet de STE (station de traitement des eaux usées) et d'effluents urbains.

L'utilisation de **réseau de co-occurrence microbien** et de **PERMANOVA** ont permis d'identifier des paramètres (dont la concentration en certains micropolluants) influençant sur les communautés microbiennes. Des modules microbiens issus du réseau de co-occurrence ont été corrélés positivement avec quatre paramètres : l'arsenic, le manganèse, l'acide oxolinique et le triméthoprim. L'étude plus approfondie de ces modules, a permis d'observer que les modules microbiens étaient organisés autour d'**ASV clefs** semblant être plus adaptés ou tolérant à la présence de micropolluants. Leur présence nous laisse à supposer un impact significatif des micropolluants identifiés sur la composition des communautés microbiennes. Ces ASV « spécialisés » représentent des potentiels bio-indicateurs de la contamination. L'étude et le profilage plus approfondi de tels organismes clefs s'avérerait un outil précieux dans le suivi de l'état de santé des écosystèmes. L'observation la plus intéressante réalisée dans ce chapitre reste l'omniprésence d'ASV attribués au genre *Nitrospira* dans les modules corrélés à la distribution des micropolluants. Ce genre cosmopolite présente de multiples capacités métaboliques remarquables (p. ex. commamox ou tolérant à la présence de contaminants). Ces observations nous ont permis de suggérer que *Nitrospira* pourrait agir comme un partenaire aidant ou favorisant la colonisation d'un habitats, une capacité pouvant être particulièrement intéressante dans le cadre d'écosystèmes contaminés.

Chapitre 5

Structuration des communautés microbiennes dans l'eau de l'estuaire de l'Adour

5.1 Introduction

Dans le chapitre précédent, nous nous sommes focalisés sur la composition et structuration des communautés microbiennes dans les sédiments de l'estuaire de l'Adour en essayant de dégager l'influence des micropolluants sur cette structuration. Dans ce chapitre, la même méthode d'analyse est appliquée cette fois sur la colonne d'eau.

Dans ce compartiment, on peut s'attendre à observer de fortes variabilités des points suivants :

- les **paramètres physico-chimiques** (tels que la température, le débit fluvial, le coefficient de marée, la salinité, le profil de la matière organique, etc.) (CRUMP et al., 2004 ; JEFFRIES et al., 2016 ; KIEFT et al., 2018) ;
- les **contaminations** (cf. Chapitre 3) ;
- les **communautés microbiennes**.

Différents travaux montrent une abondance et une diversité microbienne (et principalement bactérienne) inférieures dans l'eau par rapport aux sédiments, et des communautés plus sensibles à la variabilité des paramètres environnementaux (ZHANG et al., 2014 ; WEI et al., 2016 ; MATCHER et al., 2018 ; LIU et al., 2018). Les estuaires sont des écosystèmes caractérisés pour leur très grande hétérogénéité spatio-temporelle. Sous l'effet des cycles de marée et du régime hydrique, des paramètres environnementaux majeurs tels que

la salinité, la matière organique, ou la température peuvent varier significativement (JEFFRIES et al., 2016). Or, il est reconnu que ces paramètres majeurs influencent significativement les communautés microbiennes aquatiques et/ou estuariennes (LOZUPONE & KNIGHT, 2007; ERGUDER et al., 2009; FORTUNATO et al., 2013; XIE et al., 2014; ZHANG et al., 2014; SUNAGAWA et al., 2015).

En dehors de cette variation « naturelle » des conditions environnementales, les estuaires sont aussi des zones anthropisées. L'estuaire de l'Adour présente dans sa partie la plus aval, un tissu urbain dense correspondant aux agglomérations de Bayonne-Biarritz-Anglet, et dans son bassin-versant, il présente une activité agricole prononcée (cf. Chapitre 1.1.4).

Dans le cadre de ce projet, les communautés aquatiques du compartiment eau sont qualifiées par deux fractions : d'une part, les **microorganismes libres dans la colonne d'eau** (FL) et d'autre part, les **microorganismes attachés aux particules** en suspension (PA). Comme indiqué dans le Chapitre 1.3.3.3 cette distinction présente différents niveaux de définition, le premier est écologique et le second est opérationnel. La distinction entre ces fractions passe par le prisme de la nécessité technique, une limite plus ou moins arbitraire doit être définie.

Le seuil de **3 μm** a été utilisé pour distinguer ces deux fractions (LURIA et al., 2016; BACHMANN et al., 2018). Néanmoins, cette distinction est associable à une réalité biologique. Les deux fractions sont soumises à différentes pressions et à un dynamisme (spatial notamment) hautement variable (SIMON et al., 2014). Les particules sont généralement considérées comme des « *hotspots* » de microorganismes (FONTANEZ et al., 2015; LIU et al., 2020a), les microorganismes attachés à ces particules sont généralement considérés comme un groupe plus abondant, plus diversifié, présentant un potentiel métabolique supérieur et ainsi qu'une implication plus importante dans les flux de matière et des sources d'énergie (CRUMP et al., 1998; ORTEGA-RETUERTA et al., 2013; SIMON et al., 2014; XU et al., 2018; BORREGO et al., 2020). Parfois cependant, c'est l'inverse qui est observé avec une contribution majoritaire des microorganismes libre dans la colonne d'eau aux flux (recyclage) de matière (LAPOUSSIÈRE et al., 2011). Les microorganismes libres dans la colonne d'eau sont plus fréquemment caractérisés comme une fraction « sensible » et moins résistante, bien que cette fraction puisse tout de même exprimer une certaine plasticité écologique (ZHANG et al., 2014). La barrière entre ces deux modes de vie pourrait être encore plus fine. Certains auteurs estiment que les microorganismes pourraient être capable d'alterner entre ces deux modes de vie en fonction des conditions environnementales (GROSSART, 2010; RÖSEL & GROSSART, 2012; TANG et al., 2017; BACHMANN et al., 2018; HU et al., 2020). Dans ce chapitre, nous nous intéresserons d'abord à identifier la composition, la structuration et la variabilité saisonnière des communautés microbiennes dans les eaux de l'estuaire de l'Adour. En parallèle, nous identifierons les paramètres pouvant influencer sur ces communautés, d'une manière générale dans un premier temps puis plus précisément, les micropolluants présentant un effet significatif. La dissociation entre les microorganismes PA et FL sera conservée tout au long de ce chapitre. Dernièrement, nous nous focaliserons sur les microorganismes PA et sur l'utilisation des Geochip (puces à ADN), afin de caractériser d'un point de vue fonctionnel cette communauté.

5.2 Richesse et diversité microbiennes observées dans les eaux estuariennes

5.2.1 Premier niveau de lecture : la diversité alpha

Un séquençage du gène 16S a été réalisé pour l'intégralité des échantillons appartenant aux fractions de microorganismes libres dans la colonne d'eau (FL) et attachés aux particules (PA). Après nettoyage des séquences (suppression des séquences de mauvaises qualités, des séquences chimériques, des séquences correspondant aux chloroplastes ou mitochondries, etc.), c'est un total de respectivement 2 125 162 et 3 081 168 séquences qui furent conservées pour les fractions PA et FL (Figures 5.1 et 5.2). Avant l'étape de raréfaction ou un quelconque nettoyage de la table des ASV, ces séquences correspondaient respectivement à un total de 12 188 et 37 799 ASV. Des valeurs du même ordre de grandeurs sont retrouvées dans la littérature avant filtration (BRANDT et al., 2019; NARO-MACIEL et al., 2020; PASCUAL-BENITO et al., 2020). Les courbes de raréfaction obtenues pour les deux jeux d'échantillons (FL et PA) atteignent toutes une phase plateau. Elles nous permettent d'établir que le séquençage réalisé fut suffisant pour permettre l'accès à la biodiversité des sites (Annexes, Figures A5.1 et A5.2).

Ces séquences correspondent par site à une moyenne totale de $1\,062 \pm 374$ ASV pour les PA et de 981 ± 420 pour les FL. Ces valeurs sont légèrement inférieures à celles obtenues pour les sédiments ($1\,818 \pm 494$ ASV, cf. Chapitre 4.2). Ce nombre d'ASV est du même ordre que certaines études équivalentes méthodologiquement et réalisées en milieu aquatique (NARO-MACIEL et al., 2020; STEINER et al., 2020). Rappelons néanmoins que l'emploi des ASV est concomitant à l'utilisation de DADA2 (CALLAHAN et al., 2016a), le nombre d'études employant ces ASV en lieu et place des OTU sont minoritaires, mais en constante augmentation.

Pour les microorganismes attachés aux particules (PA), le nombre de séquences obtenues en moyenne par site est de $20\,240 \pm 8\,630$. Les indices de richesse observée (R) et estimée (Chao-1 et Simpson) sont relativement hétérogènes. Il est à noter que les sites localisés au cœur du tissu urbain de l'agglomération (soit les sites 7, 8 et, dans une moindre mesure, le site 9) présentent une diversité alpha supérieure (Figure 5.1), à l'exception des prélèvements réalisés en hiver.

Comme indiqué dans le Chapitre 2, ces sites sont regroupés dans la catégorie des sites « Urbain » (6 à 9). Ils correspondent à une zone présentant une occurrence et des maximums de concentration en micropolluant fréquemment supérieurs aux autres sites dits « Amont » ou « Aval » (cf. Chapitre 3).

On s'attendrait à ce que la biodiversité (alpha) soit négativement affectée par la présence de micropolluants. Ce lien entre une perturbation d'un écosystème et la diversité a été décrite à de multiples reprises (DURAN et al., 2015; PINTO et al., 2015; JOHNSTON & ROBERTS, 2009; JACQUIOD et al., 2018; LI et al., 2020; PASCUAL-BENITO et al., 2020). Cependant dans notre étude, l'inverse est observé, la diversité étant

plus élevée dans les zones où la présence des micropolluants est la plus importante. Des observations similaires ont été parfois réalisées et décrites (PAISSÉ et al., 2008; BEN SALEM et al., 2019). Cette situation illustre parfaitement l'hétérogénéité des réponses des communautés microbiennes face aux variations et perturbations de leur environnement.

Cette variabilité spatiale de la diversité en lien avec la présence de micropolluants est relativement peu robuste face à l'influence de la **variation saisonnière**. En effet, les maximums de diversité sont obtenus en hiver pour le site 4 (R et Chao-1) et, dans une moindre mesure, le site 3 (notamment avec l'indice de Simpson), soit deux sites « Amont » positionnés en amont de l'estuaire au niveau de la Nive. Ce même site présente au printemps et en été parmi les plus faibles valeurs de diversité (R, Chao-1 et Simpson au printemps et Simpson en été, figure 5.1). La saison et/ou la température sont fréquemment identifiées comme les facteurs principaux structurant les communautés microbiennes, notamment en milieu aquatique (SUNAGAWA et al., 2015; JEANBILLE et al., 2016; XIANG et al., 2017; BACHMANN et al., 2018). La saison a été identifiée comme l'un des paramètres structurant les communautés microbiennes sédimentaires dans l'estuaire de l'Adour. Les sédiments et les particules paraissent être influencées et structurées par les mêmes paramètres.

Les indices de diversité alpha ne montrent pas de différence saisonnière significative. Pour les microorganismes libres dans la colonne d'eau (FL), comme pour les PA, le nombre de séquences obtenues par échantillon est relativement homogène ($29\,914 \pm 4\,608$ en moyenne par échantillon) et la diversité alpha est, elle, hétérogène. Néanmoins, pour les FL, l'hétérogénéité de la diversité est plus marquée (Figure 5.2). Néanmoins, pour les sites 3 et 4, les mêmes tendances peuvent être observées pour les PA et les FL, bien que l'hétérogénéité des FL en limite l'interprétation.

Les jeux de données de séquençage ont ensuite été raréfiés, et filtrés en éliminant les ASV présentant une faible prévalence (faible fréquence d'observation d'un ASV au sein des échantillons). La raréfaction a été réalisée à partir de plus faibles nombres de séquences observés par échantillons soit, 11 209 pour les FL et 4 844 pour les PA. Enfin, les ASV présentant une fréquence d'observation inférieure à 5% ont été supprimés d'après le script R et les indications de Callahan et al. (2016b).

A	Site	Filtration le long du pipeline bio-informatique		Indices de diversité		
		Nombre de séquences initial	Séquences filtrées, mergées et nettoyées	Richesse spécifique (R)	Chao-1	Simpson (1 - D)
Printemps (AD1)						
	1	29 537 (\pm 14 072)	16 345 (\pm 7 687)	634 (\pm 190)	701 (\pm 208)	0,957 (\pm 2,5e-03)
	2	23 478 (\pm 4 342)	14 450 (\pm 2 740)	606 (\pm 86)	667 (\pm 93)	0,976 (\pm 9,4e-04)
	3	30 266 (\pm 17 362)	16 788 (\pm 8 376)	495 (\pm 127)	539 (\pm 120)	0,933 (\pm 6e-03)
	4	41 246 (\pm 18 069)	22 929 (\pm 8 632)	597 (\pm 124)	652 (\pm 140)	0,93 (\pm 4,6e-03)
	6	30 981 (\pm 7 089)	17 175 (\pm 4 487)	846 (\pm 51)	912 (\pm 71)	0,988 (\pm 3,3e-03)
	7	54 712 (\pm 3 086)	31 142 (\pm 1 288)	1 530 (\pm 58)	1 616 (\pm 67)	0,994 (\pm 1,6e-04)
	8	32 878 (\pm 16 745)	16 044 (\pm 9 134)	1 251 (\pm 434)	1 336 (\pm 445)	0,993 (\pm 1,2e-03)
	9	35 454 (\pm 9 325)	20 116 (\pm 5 550)	1 061 (\pm 214)	1 143 (\pm 220)	0,991 (\pm 3,5e-03)
	A	36 816 (\pm 13 504)	21 898 (\pm 8 622)	884 (\pm 262)	955 (\pm 276)	0,981 (\pm 2,8e-03)
	B	15 119 (\pm 789)	7 894 (\pm 96)	524 (\pm 8)	560 (\pm 15)	0,982 (\pm 8,5e-04)
	C	54 703 (\pm 6 095)	34 814 (\pm 4 464)	1 026 (\pm 72)	1 121 (\pm 75)	0,982 (\pm 2,7e-04)
	D	49 371 (\pm 24 260)	29 895 (\pm 15 120)	904 (\pm 265)	988 (\pm 278)	0,982 (\pm 2,5e-03)
Été (AD2)						
	1	42 561 (\pm 3 113)	24 321 (\pm 2 462)	813 (\pm 65)	907 (\pm 77)	0,975 (\pm 1,2e-03)
	2	46 402 (\pm 5 248)	25 537 (\pm 3 526)	922 (\pm 59)	1 009 (\pm 67)	0,98 (\pm 5,8e-04)
	3	33 771 (\pm 9 989)	15 546 (\pm 4 870)	889 (\pm 186)	973 (\pm 194)	0,962 (\pm 1,5e-03)
	4	37 207 (\pm 13 736)	19 017 (\pm 8 775)	923 (\pm 248)	1 010 (\pm 255)	0,945 (\pm 1,8e-03)
	6	43 214 (\pm 29 890)	26 322 (\pm 19 052)	859 (\pm 227)	911 (\pm 242)	0,988 (\pm 1,3e-03)
	7	63 528 (\pm 9 608)	31 955 (\pm 4 271)	1 802 (\pm 214)	1 907 (\pm 223)	0,98 (\pm 7,1e-03)
	8	35 258 (\pm 4 284)	14 849 (\pm 1 898)	1 446 (\pm 120)	1 543 (\pm 124)	0,995 (\pm 5,7e-05)
	9	37 303 (\pm 19 868)	16 653 (\pm 9 524)	1 118 (\pm 398)	1 206 (\pm 411)	0,99 (\pm 8,3e-04)
	A	46 179 (\pm 12 553)	21 052 (\pm 5 580)	1 402 (\pm 247)	1 518 (\pm 277)	0,976 (\pm 4,4e-03)
	B	25 963 (\pm 9 796)	14 397 (\pm 5 682)	731 (\pm 186)	805 (\pm 196)	0,982 (\pm 2,6e-03)
	C	42 815 (\pm 15 140)	25 464 (\pm 9 118)	955 (\pm 187)	1 034 (\pm 178)	0,982 (\pm 6,4e-04)
	D	33 146 (\pm 12 611)	18 662 (\pm 7 625)	981 (\pm 193)	1 066 (\pm 194)	0,986 (\pm 5,1e-05)
Hiver (AD3)						
	1	50 972 (\pm 15 138)	27 948 (\pm 6 893)	1 503 (\pm 181)	1 607 (\pm 165)	0,982 (\pm 3,5e-04)
	2	31 203 (\pm 12 332)	16 304 (\pm 7 582)	1 137 (\pm 286)	1 260 (\pm 259)	0,978 (\pm 2,2e-03)
	3	43 384 (\pm 11 523)	17 194 (\pm 8 393)	1 543 (\pm 341)	1 631 (\pm 338)	0,997 (\pm 1,8e-04)
	4	43 557 (\pm 12 380)	21 254 (\pm 4 636)	1 729 (\pm 197)	1 813 (\pm 196)	0,995 (\pm 2,2e-04)
	6	34 375 (\pm 8 813)	21 964 (\pm 5 293)	705 (\pm 68)	753 (\pm 71)	0,923 (\pm 1e-02)
	7	32 421 (\pm 11 633)	17 155 (\pm 6 211)	1 288 (\pm 245)	1 396 (\pm 261)	0,994 (\pm 1,3e-04)
	8	30 072 (\pm 14 932)	12 638 (\pm 5 161)	1 377 (\pm 318)	1 479 (\pm 331)	0,995 (\pm 6,7e-04)
	9	25 409 (\pm 8 902)	13 278 (\pm 4 477)	946 (\pm 205)	1 032 (\pm 205)	0,92 (\pm 1,9e-03)
	A	39 510 (\pm 18 515)	21 887 (\pm 12 069)	1 306 (\pm 356)	1 399 (\pm 338)	0,981 (\pm 2,2e-03)
	B	31 607 (\pm 12 411)	17 819 (\pm 8 031)	1 132 (\pm 225)	1 219 (\pm 228)	0,978 (\pm 1,3e-03)
	C	23 412 (\pm 3 607)	13 505 (\pm 2 264)	1 016 (\pm 72)	1 099 (\pm 93)	0,979 (\pm 9,9e-04)
	D	29 791 (\pm 12 886)	16 572 (\pm 6 652)	1 140 (\pm 205)	1 249 (\pm 195)	0,98 (\pm 1,6e-03)

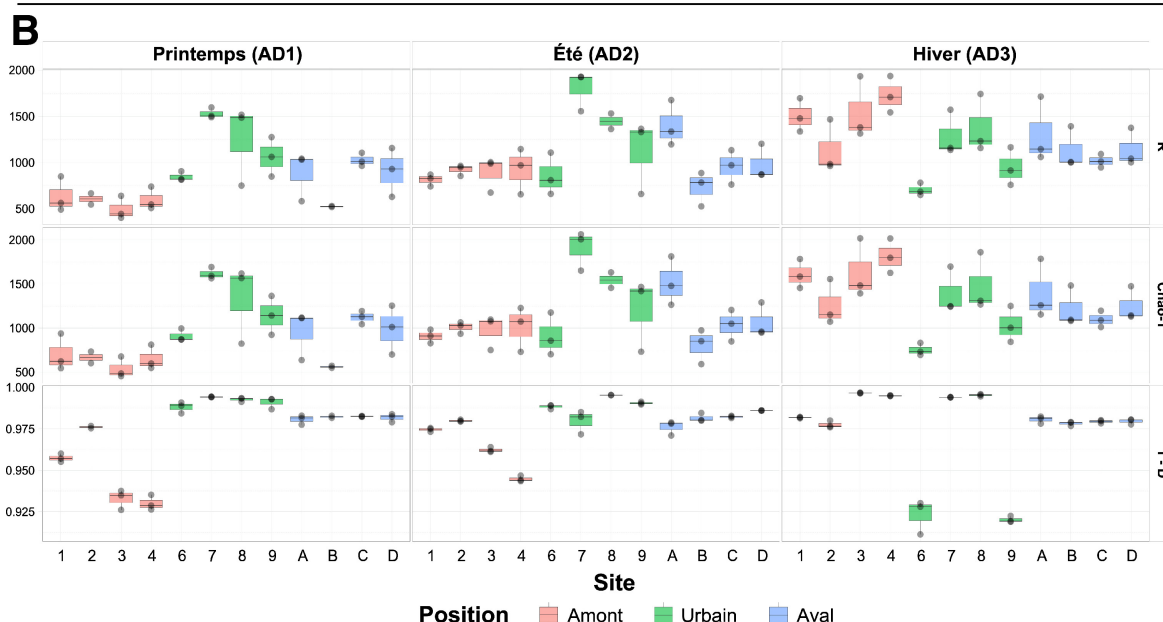


FIGURE 5.1 – Mesure de diversité dans les communautés microbiennes associées aux particules (PA). Valeurs, moyenne (\pm écart-type), du nombre de séquences, de la richesse et des indices de diversité dans les échantillons (A), et représentation graphique (boxplot) de l'évolution des valeurs des indices de diversité le long de l'estuaire (B).

A	Site	Filtration le long du pipeline bio-informatique			Indices de diversité	
		Nombre de séquences initial	Séquences filtrées, mergées et nettoyées	Richesse spécifique (R)	Chao-1	Simpson (1 - D)
Printemps (AD1)						
	1	46 659 (± 1 308)	32 117 (± 4 969)	880 (± 476)	916 (± 485)	0,921 (± 3,2e-02)
	2	39 823 (± 2 049)	28 394 (± 1 135)	776 (± 432)	807 (± 438)	0,947 (± 1,4e-02)
	3	43 214 (± 9 475)	30 505 (± 8 584)	909 (± 486)	963 (± 496)	0,898 (± 5,4e-02)
	4	42 216 (± 5 794)	32 496 (± 2 859)	444 (± 33)	486 (± 38)	0,87 (± 2,6e-02)
	6	40 136 (± 5 715)	29 730 (± 4 344)	1 110 (± 109)	1 150 (± 91)	0,975 (± 2e-02)
	7	38 624 (± 6 014)	27 985 (± 2 589)	964 (± 307)	1 041 (± 303)	0,981 (± 4,4e-03)
	8	36 966 (± 3 918)	24 237 (± 1 958)	1 576 (± 161)	1 651 (± 169)	0,995 (± 2,1e-03)
	9	40 178 (± 4 508)	30 874 (± 2 861)	585 (± 122)	616 (± 132)	0,981 (± 7,7e-03)
	A	47 701 (± 3 051)	30 267 (± 5 496)	1 641 (± 305)	1 715 (± 314)	0,978 (± 1e-02)
	B	39 569 (± NA)	30 341 (± NA)	593 (± NA)	643 (± NA)	0,954 (± NA)
	C	50 025 (± 5 758)	33 529 (± 6 602)	945 (± 654)	1 001 (± 687)	0,959 (± 1,4e-02)
	D	37 453 (± 2 916)	23 205 (± 10 366)	940 (± 603)	1 023 (± 665)	0,971 (± 2,2e-02)
Été (AD2)						
	1	42 883 (± 6 949)	31 456 (± 3 409)	518 (± 177)	559 (± 182)	0,941 (± 1,6e-02)
	2	40 223 (± 4 833)	30 432 (± 2 926)	578 (± 167)	610 (± 177)	0,971 (± 2,2e-02)
	3	36 406 (± 1 940)	27 134 (± 507)	690 (± 120)	730 (± 135)	0,931 (± 8,5e-03)
	4	40 011 (± 5 979)	29 358 (± 3 815)	694 (± 205)	757 (± 229)	0,901 (± 2,3e-02)
	6	43 552 (± 1 637)	30 559 (± 1 455)	1 094 (± 42)	1 135 (± 47)	0,983 (± 4,8e-04)
	7	45 013 (± NA)	34 446 (± NA)	932 (± NA)	992 (± NA)	0,98 (± NA)
	8	41 703 (± 6 073)	29 985 (± 2 677)	1 053 (± 159)	1 092 (± 158)	0,985 (± 3,5e-03)
	9	38 853 (± 5 539)	25 528 (± 4 897)	1 548 (± 479)	1 622 (± 523)	0,989 (± 6,1e-03)
	A	44 959 (± 6 356)	27 213 (± 7 954)	1 601 (± 438)	1 712 (± 476)	0,969 (± 3,1e-02)
	B	56 469 (± 12 096)	34 593 (± 452)	764 (± 245)	836 (± 254)	0,954 (± 9e-03)
	C	45 412 (± 10 192)	31 072 (± 6 531)	796 (± 261)	858 (± 286)	0,959 (± 1,1e-02)
	D	46 387 (± 6 550)	31 466 (± 3 255)	899 (± 245)	953 (± 286)	0,981 (± 1,2e-02)
Hiver (AD3)						
	1	40 109 (± 9 616)	28 376 (± 4 821)	924 (± 237)	971 (± 265)	0,953 (± 1,1e-02)
	2	43 851 (± 6 990)	31 658 (± 4 138)	786 (± 92)	830 (± 104)	0,949 (± 3,5e-03)
	3	42 281 (± 4 327)	27 792 (± 4 518)	1 846 (± 225)	1 908 (± 251)	0,997 (± 4,2e-04)
	4	40 844 (± 5 629)	28 008 (± 2 885)	1 567 (± 355)	1 622 (± 369)	0,995 (± 1,4e-03)
	6	40 807 (± 4 291)	30 639 (± 2 963)	863 (± 75)	903 (± 69)	0,964 (± 4,1e-02)
	7	37 489 (± 6 906)	28 743 (± 5 682)	732 (± 117)	768 (± 125)	0,984 (± 3,1e-03)
	8	36 486 (± 6 285)	27 164 (± 5 676)	832 (± 210)	868 (± 220)	0,993 (± 1,8e-03)
	9	42 688 (± 2 706)	30 926 (± 707)	1 206 (± 386)	1 255 (± 393)	0,964 (± 1,8e-02)
	A	49 716 (± 9 258)	32 320 (± 1 432)	1 059 (± 353)	1 129 (± 382)	0,96 (± 5,3e-03)
	B	47 478 (± 8 460)	32 831 (± 4 256)	908 (± 95)	982 (± 99)	0,952 (± 3,3e-03)
	C	56 902 (± 20 030)	35 348 (± 6 073)	858 (± 90)	917 (± 99)	0,954 (± 1,5e-03)
	D	39 753 (± 1 441)	28 987 (± 969)	827 (± 54)	905 (± 54)	0,952 (± 3,1e-03)

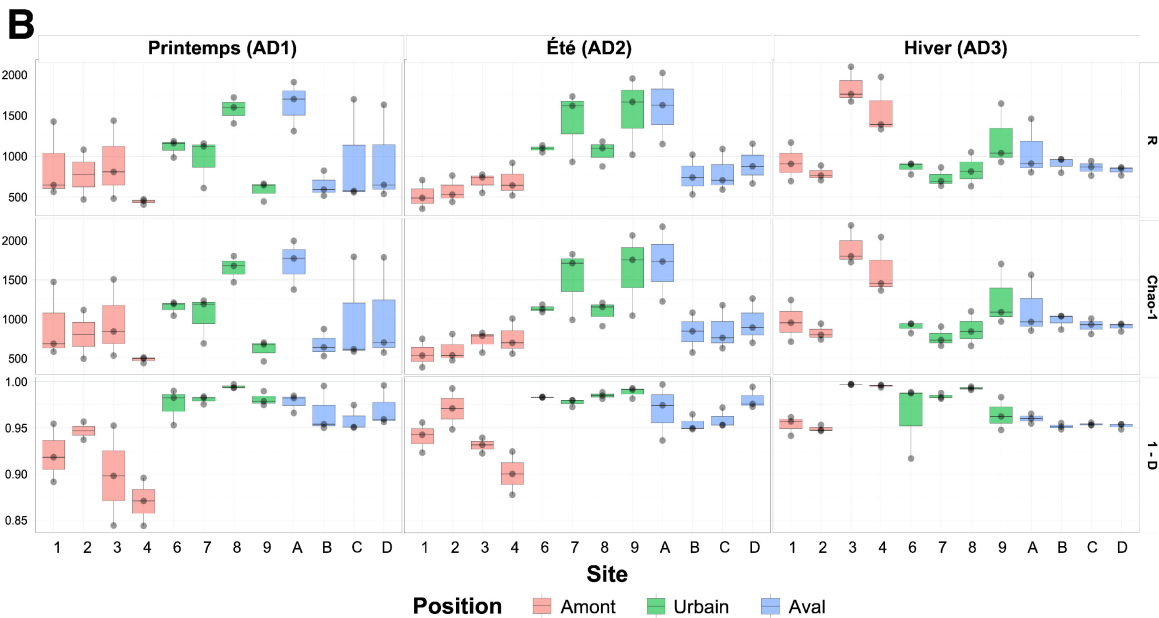


FIGURE 5.2 – Mesure de diversité dans les communautés microbiennes libres dans la colonne d'eau (FL). Valeurs, moyenne (± écart-type), du nombre de séquences, de la richesse et des indices de diversité dans les échantillons (A), et représentation graphique (boxplot) de l'évolution des valeurs des indices de diversité le long de l'estuaire (B).

5.2.2 Composition des communautés microbiennes des deux fractions

Au-delà de l'analyse de la diversité alpha, il est pertinent aussi de s'intéresser aux différents groupes d'organismes caractérisant les communautés microbiennes. Dans le cas des eaux de l'Adour, quelle que soit la fraction concernée, deux phylums sont majoritaires au sein de l'intégralité des échantillons : les **Bacteroidota** et les **Proteobacteria** (Figure 5.3). Ils représentent respectivement en moyenne $46 \pm 15\%$ et $37 \pm 13\%$ des microorganismes associés aux particules (PA) ainsi que $42 \pm 10\%$ et $43 \pm 8\%$ des microorganismes libres dans la colonne d'eau (FL). Comme indiqué dans le chapitre introductif (cf. Chapitre 1.3.3.1), cette observation correspond au caractère majoritaire de ces phylums sont majoritaires dans de nombreux écosystèmes aquatiques (ZINGER et al., 2011 ; CHAFEE et al., 2018) et estuariens (CRUMP et al., 1999 ; AGUIRRE et al., 2017 ; MATCHER et al., 2018 ; LIU et al., 2020a). Quelle que soit la fraction prise en compte, les **Proteobacteria** sont majoritairement représentées par l'ordre des **Burkholderiales** (de 48 à 90% des *Proteobacteria* pour les PA et de 41 à 97% pour les FL). Pour les *Bacteroidota*, une première distinction peut être faite entre les FL et les PA. En effet, ce phylum est très largement représenté par l'ordre des **Flavobacteriales** (de 14 à 89% des *Bacteroidota*, Figure 5.3A) dans les PA. Tandis qu'au sein des FL, les trois ordres composant principalement le phylum sont : les **Cytophagales**, **Chitinophagales** et **Flavobacteriales** avec respectivement et en moyenne $29 \pm 12\%$, $27 \pm 13\%$ et $25 \pm 9\%$ des *Bacteroidota* (Figure 5.3B).

A l'exception de ces deux phylums majoritaires, les communautés microbiennes de l'estuaire de l'Adour sont aussi composées de 11 (PA) à 13 (FL) autres phylums représentant en moyenne un minimum de 0,2% des séquences au sein de chaque site. Parmi ces derniers, les phylums **Verrucomicrobiota** (en moyenne par site $2 \pm 2\%$ et $5\% \pm 5\%$, pour les PA et FL), **Actinobacteriota** ($6 \pm 4\%$ et $4 \pm 3\%$), **Firmicutes** ($2 \pm 4\%$ et $2 \pm 3\%$), **Cyanobacteria** ($1 \pm 3\%$ et $1 \pm 2\%$), et **Desulfobacterota** ($1 \pm 1\%$ pour chaque fraction) sont retrouvés (Figure 5.3). Ces phylums sont assez classiquement retrouvés en milieu estuarien (HENRIQUES et al., 2004 ; FENG et al., 2009 ; JEFFRIES et al., 2016 ; AYLAGAS et al., 2017), confirmant que les communautés bactériennes de l'estuaire de l'Adour sont composées de phylums retrouvés dans de nombreux écosystèmes aquatiques.

Des séquences correspondantes au domaine des **Archées** ont été observées pour l'intégralité des sites, elles représentent de 0% (PA, site 3 au printemps et en été, site 4 au printemps, site 6 en hiver) à 2,3% (site 3 en hiver) de ces séquences. A l'exception des **Crenarchaeota** (moyenne de $0,3\% \pm 0,4$; Figure 5.3B) pour les microorganismes FL, aucun phylum archéen ne représente plus de 1% des séquences en moyenne. Ceci indique clairement que dans le cadre de notre étude, ce domaine est clairement minoritaire. Ces observations sont relativement en harmonie avec ce qui peut être illustré dans la littérature, ce domaine représente très généralement une part très réduite des communautés microbiennes dans les eaux estuariennes (BOUVIER & DEL GIORGIO, 2002 ; WANG et al., 2020a).

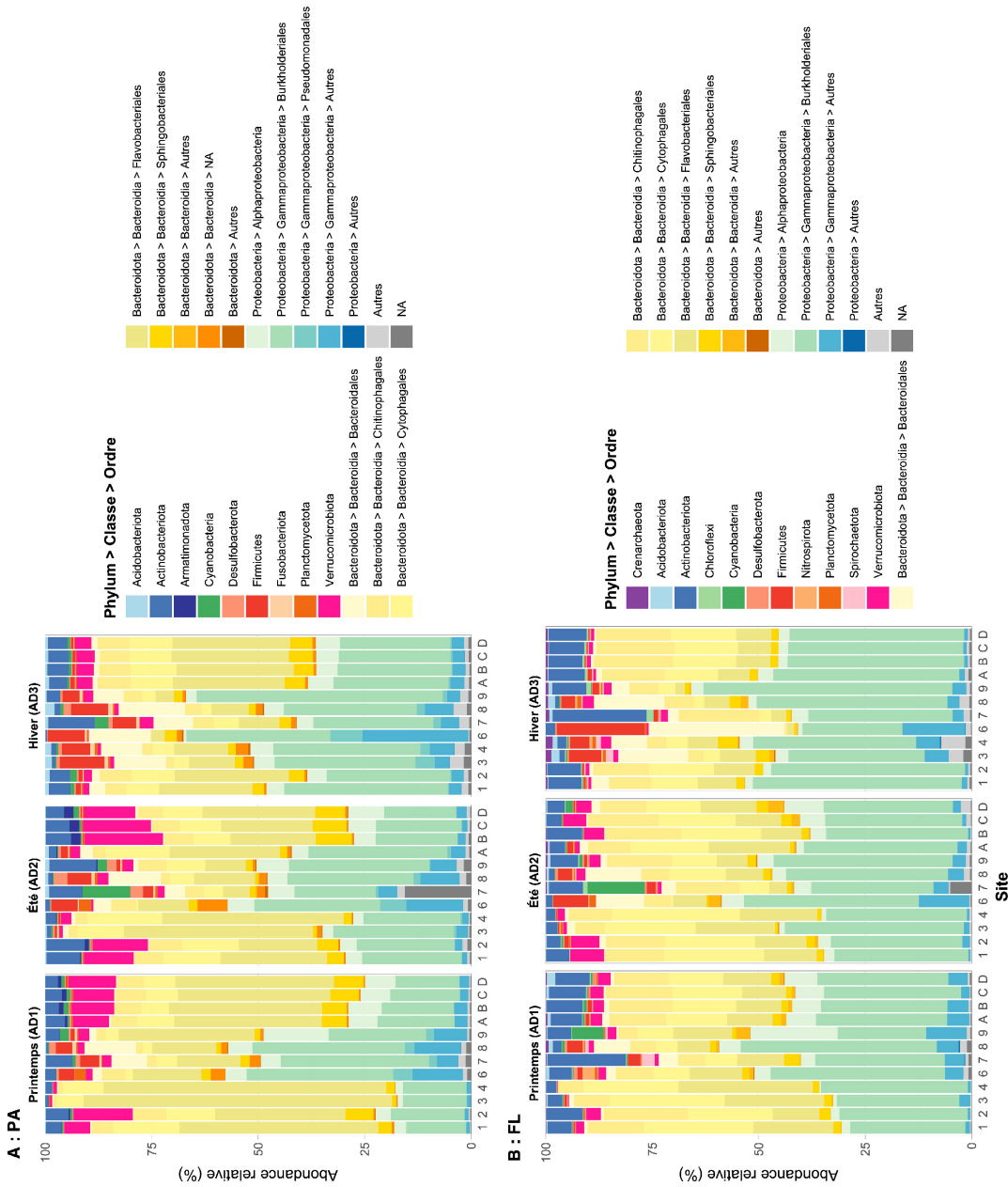


FIGURE 5.3 – Abondance relative (%) des microorganismes attachés aux particules (A : PA) et des microorganismes libres dans la colonne d'eau (B : FL). Les sites correspondent à la moyenne de trois réplicats et les abondances ont été filtrées à 0,2% pour les phylums et 1% pour les groupes inférieurs aux phylums.

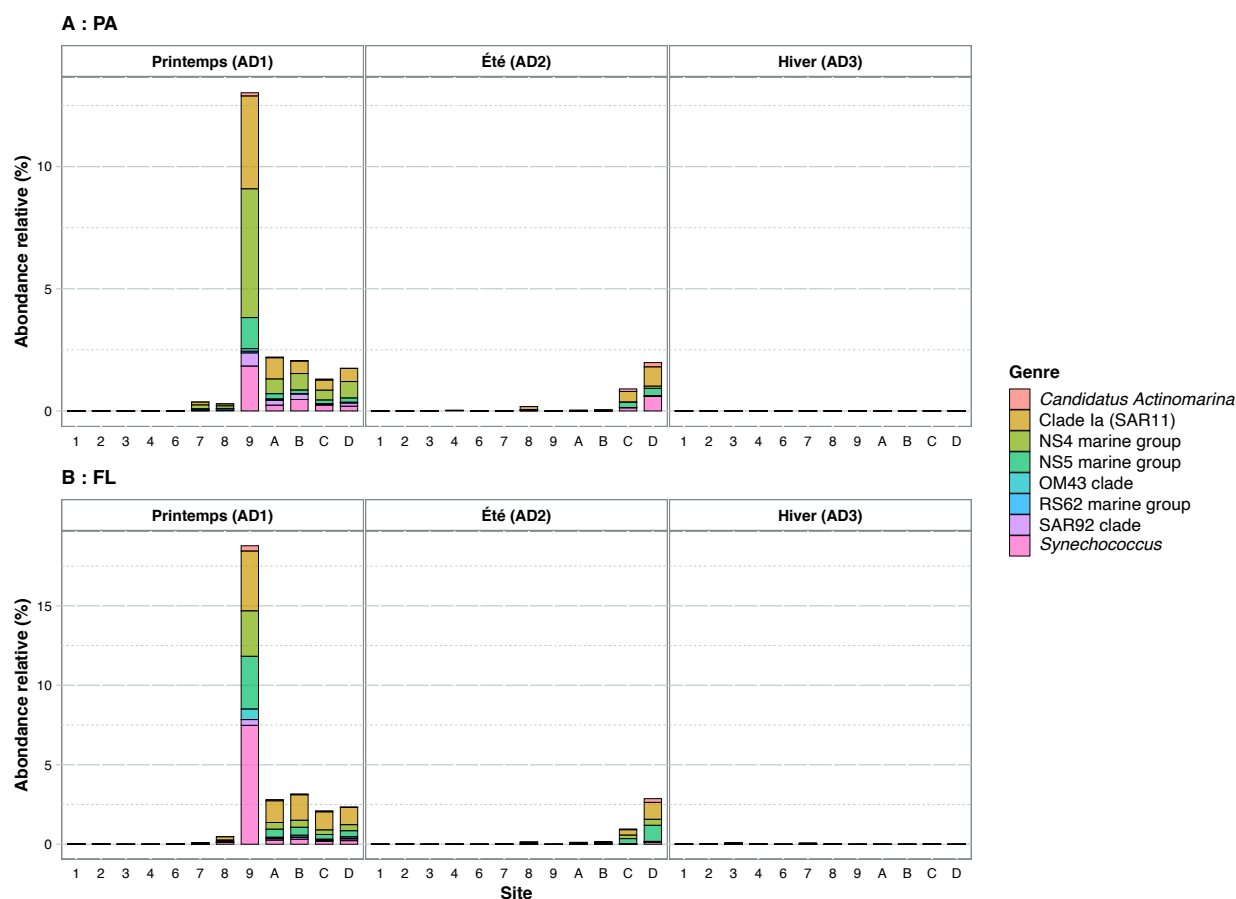


FIGURE 5.4 – Abondance relative (%) des genres microbiens associée à l'écosystème marin dans les eaux de l'estuaire de l'Adour pour les fractions de microorganismes attachés aux particules (A : PA) et des microorganismes libres dans la colonne d'eau (B : FL). Les sites correspondent à la moyenne de trois réplicats.

Contrairement à ce qui fut observé pour les sédiments, l'influence marine est clairement identifiable dans la colonne d'eau, notamment parmi les sites « Aval » (de A à D) et au printemps. Rappelons que ces prélèvements « Aval » ont été réalisés à partir d'un bateau et au cœur du chenal, ces sites n'ont pas été échantillonnés pour les sédiments. Cette influence marine est nettement remarquable si l'on se focalise sur les genres typiquement retrouvés en milieu marin tel que **SAR11** (classe des *Alphaproteobacteria*) (MORRIS et al., 2002), **SAR92 clade** (STINGL et al., 2007), **OM43 clade**, **RS62 marine group** (classe des *Gammaproteobacteria*), **NS4 marine group** et **NS5 marine group** (phylum des *Bacteroidota*) (LIU et al., 2020a), **Candidatus Actinomarina** (GHAI et al., 2013) (phylum des *Actinobacteriota*) et **Synechococcus** (SCANLAN & WEST, 2002) (phylum des *Cyanobacteria*). Ces genres présentent une abondance plus marquée à proximité de l'embouchure et au niveau des sites présentant une salinité proche de l'influence marine (cas particulier du site 9 au printemps) (Figure 5.4). Les profils d'abondance de ces genres suivent parfaitement le profil de la salinité mesurée dans les échantillons (cf. Chapitre 2.1.2 et Annexes, figure A2.1A).

5.3 Structuration des communautés dans l'estuaire de l'Adour

Dans cette seconde partie, la composition microbienne au niveau du genre ou de l'ASV a été utilisée pour identifier la structure des communautés microbiennes ainsi que sa **variabilité spatiale et/ou saisonnière**. Dans un premier temps, les deux fractions, FL et PA, seront distinguées afin d'interroger leurs structures respectives indépendamment. Dans un second temps, les deux jeux de données (FL et PA) seront simultanément pris en compte afin, cette fois-ci, d'interroger les différents modes de vie (c.-à-d. libre ou associé) et d'identifier leur connexion.

5.3.1 Influence de la saison et du tissu urbain dans la structuration des communautés microbiennes

Pour interroger la structuration des communautés microbiennes, nous employons la diversité bêta soit la différence de diversité ou de composition entre deux sites ou échantillons (cf. Chapitre 1.4.5.1). La comparaison des communautés microbiennes associées aux particules (PA) est présentée sur la figure 5.5. De la même manière que pour les sédiments, la différence de structure des communautés microbiennes ne peut être synthétisée par une unique représentation graphique (NMDS). Nos échantillons sont scindés en deux grands groupes qui présentent une très forte dissimilarité empêchant leur représentation graphique commune. Les différences de structure des communautés microbiennes a été mise en évidence par un dendrogramme (Figure 5.5A) accompagné d'une NMDS (Figure 5.5B). La comparaison de la structuration des communautés microbiennes a été réalisée en utilisant les moyennes d'abondances quelle que soit la campagne d'échantillonnage afin de visualiser les différences de structure le long de l'estuaire de l'Adour.

Le dendrogramme des sites PA réalisés à partir du niveau des ASV nous permet d'identifier une première structuration saisonnière des échantillons. Deux groupes sont distincts, un premier isolant les sites « Hiver » (jaune) d'un second comprenant les sites « Printemps » (vert) et « Été » (rose) (Figure 5.5A, groupe 1 et 2 vs 3 et 4). Cette même observation avait pu être réalisée pour les sédiments (cf. Chapitre 4). En suivant, chacun de ces deux groupes vont à nouveau se scinder en deux, séparant plus ou moins efficacement les sites « Urbain » des sites « Amont » et « Aval » (Figure 5.5A, groupe 1 vs 2 et 3 vs 4). Cette séparation est nette pour les prélèvements de printemps et d'été où les sites 6, 7, 8 et 9 se retrouvent dans un groupe dissocié des autres (Figure 5.5A, groupe 2). Pour les prélèvements hivernaux (jaune), les sites situés sur la Nive sont retrouvés associés à ceux du cluster « Urbain » et particulièrement aux sites 7 et 8 (Figure 5.5A, groupe 3). Ces deux sites de prélèvement se trouvent sur la rive gauche de l'estuaire et à proximité de la confluence de la Nive. De plus, en hiver (au cours de la période de prélèvement), le débit fluvial dans l'estuaire estimé de $729 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ correspond au débit le plus important sur l'ensemble des périodes de prélèvement dans le cadre de cette étude ($209 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ au printemps et $105 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ en été, cf. Chapitre 2.1.2, Figure 2.4). Cette décharge plus conséquente des eaux de la Nive à cette saison a probablement influencé la composition des

communautés microbiennes des sites situés à proximité de la confluence. Cette observation ne vaut que pour les sites situés sur les berges du côté de la Nive, puisque les sites situés au cœur du chenal (site A) ont été influencés par les sites amont situés sur l'Adour (1 et 2) (Figure 5.5A, groupe 4). Globalement **l'installation d'un continuum estuarien qui réunit les sites « Amont » situés sur l'Adour (1 et 2) et les sites « Aval » (B, C et D) est observée**. Cette structuration précédemment décrite pour les prélèvements hivernaux est aussi observable pour les autres saisons (Figure 5.5A, groupe 1).

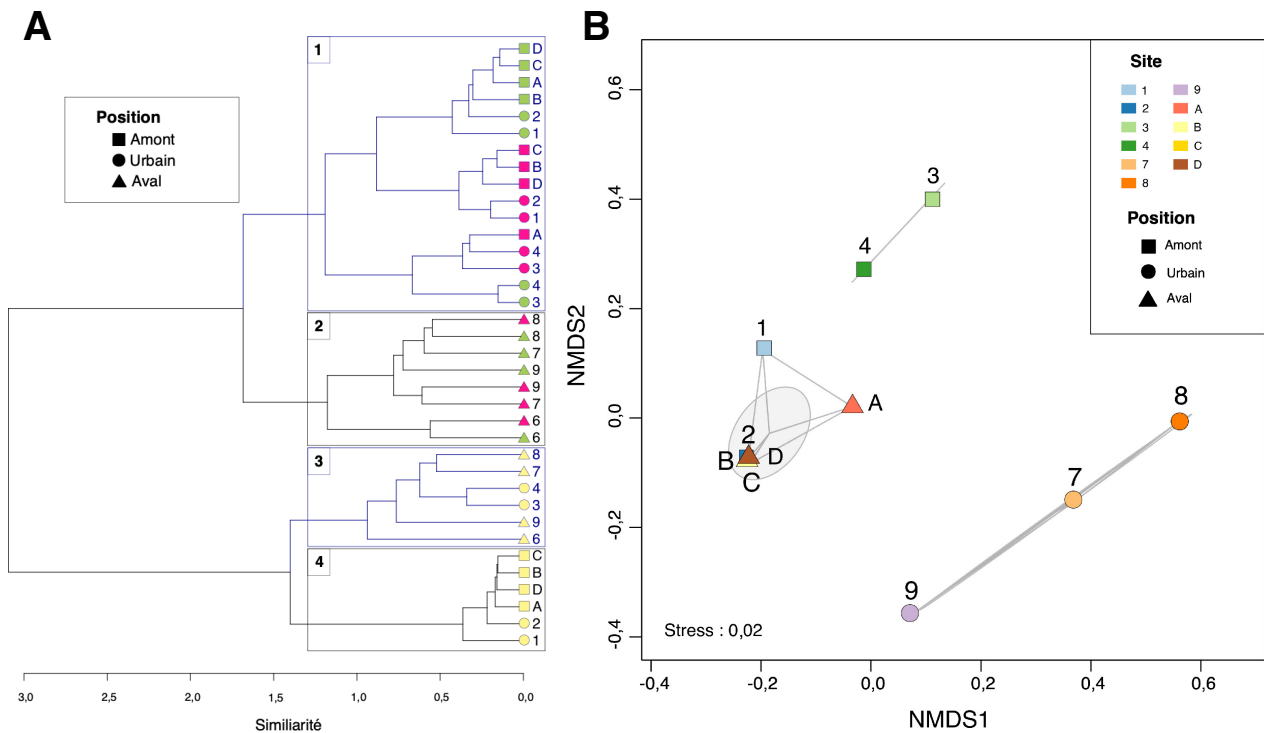


FIGURE 5.5 – **Communautés microbiennes associées aux particules (PA)**. Dendrogramme (A) de la classification hiérarchique ascendante des sites (moyenne des réplicats) réalisé par la méthode des Ward sur les distances de Bray-Curtis mesurées à partir de la composition en ASV. Les quatre groupes ont été déterminés d'après l'évolution du pourcentage d'inertie expliquée (86% pour quatre groupes). Les saisons sont distinguées par des couleurs : printemps (vert), été (rose) et hiver (jaune). NMDS (B) basée sur la distance de Bray-Curtis des sites moyennés par saisons. Les groupements illustrés par les zones grisées sont définis par la méthode de classification des nuées dynamiques (k-means). Le site 6 présente une valeur de dissimilarité (Bray-Curtis) trop importante pour être représenté graphiquement, il a été exclu de cette représentation.

Ce premier cluster (Figure 5.5A, groupe 1) est composé de deux branches qui distinguent les sites « Amont » situés sur la Nive de ceux du continuum estuarien, avec une exception néanmoins visible en été (rose) où le site A est associé aux prélèvements réalisés sur la Nive, rappelons que le site A est situé à proximité de la zone

de confluence (Adour et Nive). Cette observation est liée au déplacement du point de prélèvement (site A) vers la rive gauche de l'estuaire pour des raisons techniques à cette saison. Comme observé précédemment, ce déplacement peut expliquer l'influence plus marquée de la Nive sur les communautés microbiennes aquatiques PA en été. Cette structuration des sites en fonction de la position le long de l'estuaire est encore plus visible sur les NMDS. Cette représentation ne prenant pas en compte la saison, on peut nettement observer la dissociation des sites de prélèvement selon 3 groupes : le continuum estuarien (sites 1, 2, A, B, C et D), la Nive (sites 3 et 4) et la zone urbaine (sites 7, 8 et 9) (Figure 5.5B). Le site 6 n'est pas représenté, il correspond à lui seul à un quatrième groupe. Ce site correspond à un prélèvement réalisé à proximité du rejet de la station de traitement des eaux usées (STEU) de S^t-Frédéric (Bayonne). Cette représentation montre que la communauté microbienne estuarienne de l'Adour est structurée et robuste le long de l'estuaire. Mais localement et à proximité de la zone urbaine et de ces rejets, ces communautés sont alors restructurées, laissant supposer, à minima, une influence locale des activités anthropiques sur les communautés microbiennes associées aux particules.

Ainsi, on observe clairement une influence d'une part de la **saison** et d'autre part de la **position le long de l'estuaire** sur les communautés microbiennes. Cette observation avait pu être également faite pour les prélèvements sédimentaires. Les sites « Aval » (de A à D), qui n'étaient pas compris dans les prélèvements sédimentaires, permettent ici l'observation du continuum s'installant de l'amont à l'aval de l'estuaire de l'Adour et l'identification de l'influence de la zone urbaine d'Anglet-Bayonne-Biarritz sur les communautés microbiennes.

Pour les microorganismes libres dans la colonne d'eau, les sites de prélèvement (toutes saisons confondues) présentent légèrement moins de dissimilarité, ce qui nous a permis de réaliser une unique représentation graphique (NMDS) afin d'interpréter leur structuration (Figure 5.6). La précédente structure des communautés observée pour les microorganismes attachés aux particules est en partie reconnaissable ici. Le profil le plus visible est la séparation relativement nette entre les sites « Urbain » d'une part (partie droite du graphique) et les sites « Amont » et « Aval » (partie gauche) d'autre part. Avec à nouveau, l'exception des sites « Amont » sur la Nive (3 et 4) qui en hiver sont ceux associés aux sites « Urbain ».

De plus, on peut observer la formation d'une cohorte réunissant les sites « Amont » sur l'Adour et les sites « Aval » au printemps et de l'été d'une part et de l'hiver d'autre part. On observe aussi une exception avec le site A qui, en été, s'associe aux sites « Amont » sur Nive. Le plus remarquable est que, bien que la structuration des communautés microbiennes **le long de l'estuaire** soit de nouveau observable, **l'influence de la saison est ici bien plus négligeable**.

Dans nos jeux de données précédents, que ce soit les particules dans la colonne d'eau ou les sédiments, la première structuration des sites se faisait toujours en isolant les sites correspondant aux prélèvements hivernaux des autres saisons. Ici, on observe que les sites « Hiver », situés surtout à proximité de la zone urbaine, ne sont pas isolés des autres saisons. C'est le cas, par exemple, des sites 6, 7, 8 et 9 hivernaux groupés à d'autres sites non hivernaux (Figure 5.6).

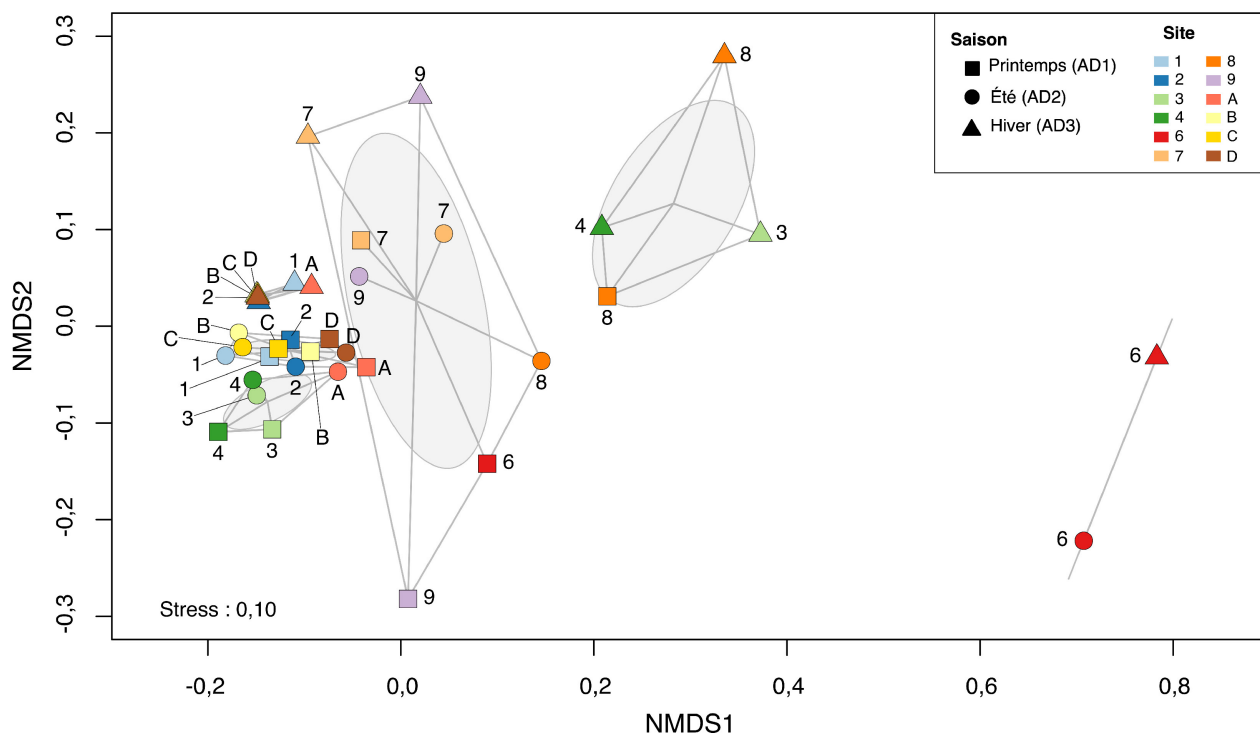


FIGURE 5.6 – **Communautés microbiennes libres dans la colonne d'eau (FL)**. NMDS basée sur la distance de Bray-Curtis des eaux de l'estuaire de l'Adour pour les fractions libres dans la colonne d'eau. Les groupements illustrés par les zones grisées sont définis par la méthode de classification des nuées dynamiques (k-means).

Généralement, ces sites sont d'ailleurs associés à leurs homologues d'autres saisons (p.ex. le site 6 « Hiver » avec le site 6 « Été » ; le site 8 « Hiver » avec le site 8 « Printemps » ; les sites 7 et 9 « Hiver » avec les sites 7 et 9 « Printemps » et « Été » entre autres). Ainsi, pour les microorganismes libres dans la colonne d'eau, l'influence de la saison (ou température) semble être réduite, ou du moins couplée au positionnement le long de l'estuaire.

Pour les deux types de communautés (libres ou attachées), l'influence du positionnement des sites de prélèvement soulève différentes interrogations. Cette influence réside-t-elle dans la position absolue des sites le long d'un gradient ou bien est-elle liée à la présence de la zone urbaine, et de fait à l'impact des pollutions ? Précisément le groupement formé entre le site 6 « Hiver » et « Printemps » peut être mis en relation avec les rejets de STEU de S^t-Frédéric. Ces deux sites se distinguent nettement des autres par leurs concentrations en phosphate (PO_4^{3-}), ammonium (NH_4^+) et nitrite (NO_2^-) dissous particulièrement élevées (Annexes, Figures A5.3, A5.4 et A5.5). Ces concentrations correspondent d'ailleurs à des qualités d'eaux mauvaises à médiocres d'après les normes de la DCE (Directive cadre sur l'eau) et l'arrêté du 27/07/15. L'évolution des concentrations en nutriments altère drastiquement la structure des communautés ici, modifiant localement

les habitats en perturbant les flux de matière et d'énergie. L'isolement de ces deux sites de prélèvements peut ainsi être ici associé à la présence de différents polluants (voir Chapitre 3), et leur action synergique. La présence de cette cohorte unissant les sites « Amont » et « Aval », il devient plus évident que la nature même des prélèvements qualifiés d'urbain et l'influence de la zone urbaine soit à la source de cette re-structuration des communautés microbiennes au cœur de l'estuaire. Néanmoins, les paramètres précis à l'origine de cette re-structuration restent difficilement unanimement identifiables.

5.3.2 Connectivité entre les modes de vie

Comme indiqué dans l'introduction de ce chapitre, ces deux fractions (FL et PA) correspondent à deux modes de vie qui, bien qu'ils correspondent à deux niches écologiques et des communautés microbiennes distinctes, sont connectés. Ainsi, au-delà de la structuration locale des communautés microbiennes au sein de l'écosystème, il est intéressant de s'arrêter sur la connectivité de ces deux fractions.

5.3.2.1 Similarité entre les modes de vie

Comme illustrée par les abondances des différents groupes microbiens (Figure 5.3), ces deux fractions sont composées à première vue de groupes microbiens similaires, avec les mêmes phylums dominants. Néanmoins, les premières distinctions entre les deux fractions ont été constatées dès la description des abondances microbiennes. Afin de s'interroger plus précisément sur le lien entre ces modes de vie, la diversité bêta (Indice de Jaccard β_{Jacc}) pour chaque site et entre chaque fraction a été calculée. De plus, pour une meilleure appréciation de cette diversité intra-fraction, la diversité a été scindée entre la part de la diversité associée à la richesse spécifique (« **Nestedness** », $\beta_{Jacc, nest}$) et celle au remplacement spatial (« **Turnover** », $\beta_{Jacc, turn}$) (BASELGA, 2010), ces résultats sont résumés dans la figure 5.7. Pour rappel, la somme $\beta_{Jacc, turn}$ et $\beta_{Jacc, nest}$ est égale à la valeur de l'indice de Jaccard (β_{Jacc}), ainsi ces deux sous-indices sont directement proportionnels à la valeur du coefficient de Jaccard.

On peut observer que β_{Jacc} est compris entre 0,64 (Site 6 en été) et 1,00 (Site 1 en hiver), ces valeurs indiquent que ces deux fractions sont différentes. De plus, une claire distinction peut être faite entre les différentes saisons. L'indice de Jaccard β_{Jacc} augmente significativement en hiver, il passe d'une moyenne de 0,76 ($\pm 0,03$) et 0,71 ($\pm 0,04$) au printemps et en été, à une moyenne de 0,998 ($\pm 0,002$) en hiver (Figure 5.3). Ceci nous indique que les deux modes de vie (ou fractions) sont particulièrement dissemblables en hiver. Cette observation est à mettre en lien avec la structuration des communautés microbiennes associées aux particules (PA) décrite plus haut (Figure 5.5A), la fraction PA en hiver était déjà dissociée des autres saisons. Cette dissimilarité se retrouve ici aussi, néanmoins, on peut incriminer seule la fraction PA. En effet, plusieurs études ont illustré cette dissociation des fractions PA et FL en fonction de différents paramètres environnementaux tels que la température (BACHMANN et al., 2018), la salinité (RIECK et al., 2015), les

flux de matière organique et/ou inorganique (ORTEGA-RETUERTA et al., 2013) ou encore la concentration en chlorophylle a (ORTEGA-RETUERTA et al., 2013). De plus, différents paramètres environnementaux n'agissent pas de la même manière sur les deux fractions, il semblerait que les PA soient plus sensibles à la disponibilité du substrat et à la qualité des particules (YUNG et al., 2016), quant aux FL qui composent une niche écologique moins protégée que les PA, ils seraient plus sensibles aux variations des paramètres abiotiques de l'eau (comme la température) (BACHMANN et al., 2018).

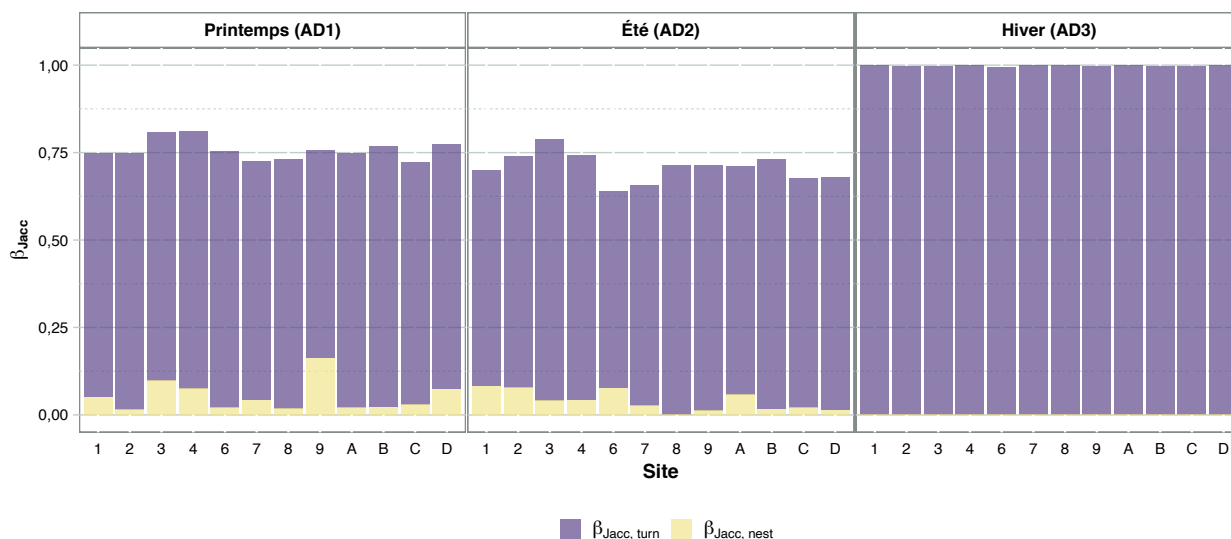


FIGURE 5.7 – Partition et valeurs de la diversité bêta (indice de similitude de Jaccard β_{Jacc}) entre les différents modes de vie (PA et FL) au sein des eaux de l'estuaire de l'Adour et en fonction de la saison.

La part de diversité liée à la richesse ($\beta_{Jacc, nest}$) est en moyenne relativement faible ($0,03 \pm 0,04$), voire pratiquement nulle en hiver. Pour les autres saisons, elle est en moyenne de $0,05 (\pm 0,04)$ et $0,04 (\pm 0,03)$ au printemps et en été respectivement (Figure 5.3). Ainsi, une grande partie de la dissimilarité observée entre les fractions est due à un turnover des ASV entre les deux fractions. Néanmoins, localement, et surtout au printemps, la part de diversité due à la richesse (donc une perte ou gain de biodiversité entre les sites à partir d'un pattern niché) est plus importante. Ceci laisse sous entendre une plus grande connectivité entre les fractions lorsque les valeurs de $\beta_{Jacc, nest}$ sont plus importantes. Ici, le maximum pour la $\beta_{Jacc, nest}$ est observé pour le site 9 au printemps. Ce site correspond au site où la salinité est la plus importante sur l'ensemble de l'échantillon et il s'agit donc d'un proxy de l'influence de l'écosystème marin. Pour ce site, il semblerait que les deux fractions soient plus emboîtées malgré une diversité bêta β_{Jacc} relativement importante. L'ensemble de ces observations illustre la grande complexité d'étude des différents modes de vie des microorganismes dans la colonne d'eau.

5.3.2.2 Réseau de co-occurrence comprenant les deux modes de vie

Bien que les fractions/modes de vie PA et FL présentent une certaine dissimilarité, nous nous sommes intéressés à la structure commune de ces communautés microbiennes. Afin, d'identifier une structure ou éventuellement une interaction commune entre ces deux fractions, nous avons réalisé un réseau de co-occurrence composé simultanément des ASV de chacune des fractions. Ce réseau a été construit selon les indications mentionnées précédemment (cf. Chapitre 2). Différents paramètres descriptifs de ce réseau sont présentés dans le tableau 5.1. Comme indiqué dans le Chapitre 4, ces paramètres nous permettent de valider que le réseau suit bien différentes propriétés partagées par un grand nombre de réseaux complexes, telles que : le réseau invariant d'échelle (*scale-free network*), l'effet petit monde (*small-world effect*), etc. (DENG et al., 2012). Ces propriétés sont mesurées sur un lot de 100 réseaux générés aléatoirement et de même dimension que le réseau empirique à partir de la procédure de Maslov-Sneppen (MASLOV & SNEPPEN, 2002; DENG et al., 2012), elles nous permettent d'observer si la structure du réseau empirique n'est pas due au hasard. Ainsi, la valeur de la régression de la connectivité de la loi de puissance ($R^2 = 0,82$), nous indique que ce réseau présente bien des caractéristiques de réseau invariant d'échelle (Tableau 5.1). La distance moyenne du chemin (GD) est d'une part, relativement proche du logarithme de la taille du réseau (n) (Tableau 5.1) et est similaire à la valeur observée pour des réseaux de la même taille exhibant un effet petit monde (ZHOU et al., 2010; ZHOU et al., 2011; DENG et al., 2012). Ceci nous indique que ce réseau lui aussi présente des caractéristiques typiques du phénomène du petit monde.

TABLEAU 5.1 – Paramètres topologiques du réseau empirique et des réseaux aléatoires associés des communautés microbiennes des eaux (FL+PA) de l'estuaire de l'Adour.

Valeurs des paramètres topographiques pour le réseau empirique	
Taille du réseau (n)	FL+PA, toutes saisons confondues 272
R^2 de la loi de puissance	0,821
Degré moyen (avgK)	4,309
Distance moyenne du chemin (GD)	4,586
Coefficient de regroupement moyen (avgCC)	0,219
Modularité (M)	0,677
Valeurs des paramètres topographiques pour 100 réseaux aléatoires	
Distance moyenne du chemin (GD)	$3,631 \pm 0,060$
Coefficient de regroupement moyen (avgCC)	$0,045 \pm 0,008$
Modularité (M)	$0,451 \pm 0,006$

Globalement, le réseau FL+PA (Figure 5.8A) est composé de 272 noeuds (ASV) appartenant à 12 phylums dont 5 sont majeurs : *Bacteroidota* (41,2%), *Proteobacteria* (40,8%), *Actinobacteriota* (6,2%), *Firmicutes* (3,4%) et *Verrucomicrobiota* (3,4%). Ces phylums correspondent aux phylums majoritaires retrouvés dans chacune des fractions (FL et PA) (Figure 5.3).

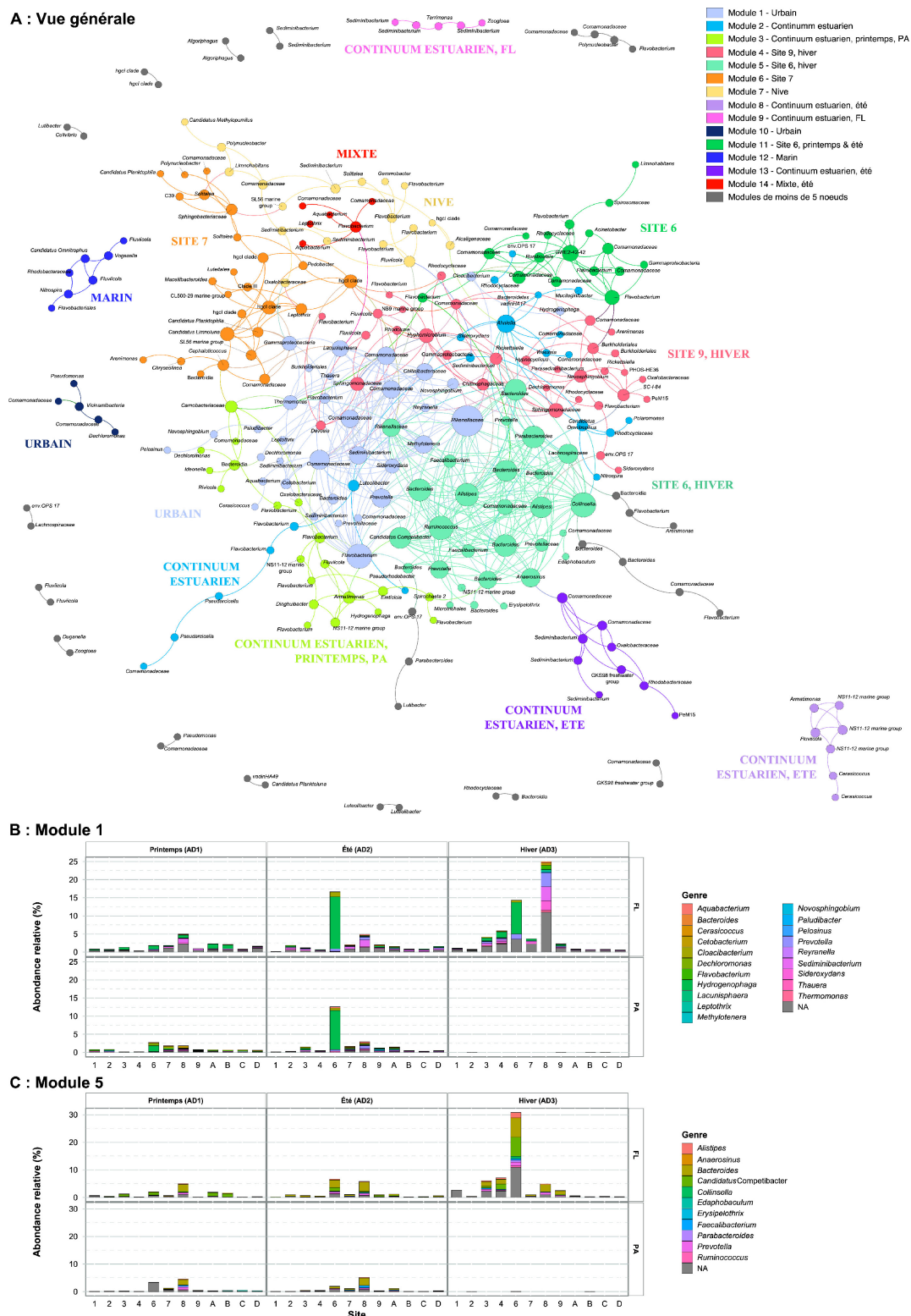


FIGURE 5.8 – Réseau de co-occurrence des communautés microbiennes (FL+PA) de l'estuaire de l'Adour (A). Chaque nœud correspond à un ASV et la taille des nœuds est proportionnelle à la valeur de la centralité intermédiaire. En couleur, sont indiqués les modules composés d'au moins 5 nœuds. Le niveau taxonomique le plus précis est indiqué pour chaque nœud. Abondance relative (%) des ASV correspondants aux nœuds du module 1 (B) et du module 5 (C).

De plus, les abondances relatives de ces phylums sont relativement proches de celles observées précédemment pour l'intégralité des jeux de données PA comme FL. La modularité (M) calculée pour ce réseau est de 0,68, ce qui est largement supérieure à la valeur obtenue avec des réseaux aléatoires ($0,45 \pm 0,006$) (Tableau 5.1), validant la structuration modulaire du réseau. Les **272 ASV** se répartissent au sein de plus de **14 modules** (composé d'un minimum de 5 nœuds). En observant, la distribution en abondance de chacun de ces modules (Figure 5.8B et C pour les modules 1 et 5, données non représentées pour les autres modules), on a pu remarquer que chacun de ces modules présentait globalement une affiliation claire à certains sites, à la fraction, la saison ou au positionnement des sites de prélèvement. Ces affiliations sont identifiées sur la figure 5.8A.

Ce réseau s'articule principalement autour **deux modules majeurs** : le **1** et **5**, correspondant respectivement à des prélèvements en zone urbaine et au site 6 (STEU de S^t-Frédéric) en hiver. Ces deux modules présentent une grande densité, et un nombre d'ASV conséquent de nœud. Parmi ces derniers, certains peuvent être qualifiés de **nœuds clefs**, soit des nœuds présentant un nombre important de connexion avec d'autres nœuds (donc une centralité intermédiaire plus importante). Dans la figure 5.8A, cette information est représentée par la taille des nœuds. Le module 1 est composé d'un certain nombre de nœuds clefs dont deux correspondent aux familles *Rikenellaceae* et *Comamonadaceae*, et dont 3 autres correspondent aux genres bactériens *Flavobacterium*, *Thermomonas* et *Lacunisphaera*. *Rikenellaceae* est une famille constituée de deux genres *Rikenella* et *Alistipes*, elle est souvent retrouvée dans le tractus digestif des Hommes et animaux (GRAF, 2014). Tandis que *Comamonadaceae* est, elle, composée de plusieurs dizaines de genres retrouvés dans de multiples écosystèmes (marin, estuarien, dulcicole, etc.) et présente une importante diversité métabolique (WILLEMS, 2014). Le genre *Thermomonas* est un genre bactérien isolé dans de multiples environnements dont des rejets de STEU industrielles (JU et al., 2019) et décrit comme pouvant réduire l'arsenic sous anoxie (SUHADOLNIK et al., 2017). Le genre *Lacunisphaera* a été lui isolé pour la première fois en milieu lacustre (RAST et al., 2017) et capable réduire les nitrates (ou ammonification) en anaérobie (ZHAO et al., 2020) (Figure 5.8A).

Flavobacterium est un genre bactérien composé de plusieurs centaines d'espèces¹ différentes retrouvées dans une multitude d'écosystèmes hétérogènes comme les sols (CHAUDHARY et al., 2019), les milieux estuarien (KISAND et al., 2002), dulcicole (NEWTON et al., 2011), marin (FERNÁNDEZ-GÓMEZ et al., 2013), ou encore polaires (CHAUDHARY et al., 2019; YI et al., 2005) ainsi que de multiples écosystèmes contaminés (JIT et al., 2008; AO et al., 2014; CHAUDHARY et al., 2019). Plusieurs espèces présentent d'ailleurs des capacités métaboliques d'intérêt comme la fixation de l'azote (KÄMPFER et al., 2015), la dégradation de la matière organique réfractaire (p.ex. les polysaccharides) (MCBRIDE et al., 2009), la capacité de se déplacer seule et sans flagelle (mobilité par glissement) (MCBRIDE et al., 2009) ou la dégradation de contaminants organiques (SABER & CRAWFORD, 1985; CHAUDHARY et al., 2019).

1. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN). Disponible à l'adresse : <https://lpsn.dsmz.de>. Consulté en juillet 2021.

D'autres ASV composant ce module, autre que *Flavobacterium*, présentent aussi des traits intéressants, et des métabolismes secondaires hétérogènes comme : *Thauera* présentant d'importantes capacités de dégrader les composants aromatiques (SHINODA et al., 2004); *Methylothermobacter*, un genre bactérien pouvant utiliser la méthylamine comme source d'azote, de carbone et d'énergie (KALYUZHNYAYA et al., 2006) et présente une capacité de dégradation des pesticides (YAMAGUCHI et al., 2021); ou encore *Sideroxydans*, une bactérie l'oxydoréduction du fer (COOPER et al., 2020). Ces indications laissent à supposer que la composition hétérogène de ce module pourrait être liée à la présence de la zone urbaine qui favorisent le développement de bactéries compétitrices ou présentant des capacités métaboliques leur allouant un avantage sélectif en milieu contaminé et perturbé. Le module 5, lui, s'articule autour de multiples ASV clefs, parmi lesquels : *Anaerostipes* (appartenant à la famille des *Rikenellaceae*, d'autres noeuds de ce module correspondent à cette famille), *Collinsella*, *Alistipes* ou *Parabacteroides* (Figure 5.8A). L'ensemble de ces genres correspond à des genres bactériens classiquement détectés dans les communautés microbiennes de la matière fécale humaine ou animale (SHANKS et al., 2013; PARKER et al., 2020), mais aussi en sortie de STEU (LAMARTINA et al., 2021). D'ailleurs de nombreux noeuds moins centraux dans ce module correspondent aussi à des microorganismes caractéristiques de la matière fécale : *Lachnospiraceae* et *Ruminococcus* (MCLELLAN et al., 2010; NEWTON et al., 2013; SHANKS et al., 2013), *Faecalibacterium* (MCLELLAN et al., 2010; SHANKS et al., 2013; LAMARTINA et al., 2021), *Prevotella* (SHANKS et al., 2013; SHCHEGOLKOVA et al., 2016; LAMARTINA et al., 2021), *Flavobacterium* et *Bacteroides* (LAMARTINA et al., 2021), etc. (Figure 5.8A). Cette cohorte bactériale, au-delà d'être la simple identification de l'influence des rejets de STEU (le site 6 correspondant à la STEU de St-Frédéric), est aussi une signature claire de l'influence humaine sur les écosystèmes. En effet, de nombreux auteurs se sont intéressés à la distinction entre la signature dite « humaine », correspondant concrètement aux bactéries fécales, d'une signature « eau usée », correspondant plus nettement à un signal des STEU et dont les sources sont multiples (agriculture, industrie, hôpitaux, eaux urbaines, etc.) (NEWTON et al., 2013; MCLELLAN et al., 2010; LAMARTINA et al., 2021). Les genres et familles cités précédemment, et donc ce module 5, correspondent plutôt à la signature de la première catégorie, soit, des communautés microbiennes associées à la matière fécale humaine.

La question qui se pose alors est pourquoi ce signal est-il uniquement observé pour le site 6 en hiver? S'agit-il des conditions environnementales qui pourraient être plus favorables en hiver ou inversement plus défavorables au printemps et en été (plus de compétition par exemple)? Ou bien existe-t-il un lien avec la nature ou l'intensité des rejets de la STEU? Finalement, plusieurs des genres cités appartenant à ce module 5 présentent un certain pouvoir pathogène pour l'Homme et/ou les animaux. D'ailleurs, l'intérêt de la distinction entre la signature des STEU et celle de la matière fécale humaine reposent surtout sur le danger pour l'Homme et les écosystèmes que cette deuxième représente (MCLELLAN et al., 2018). A titre d'exemple, parmi ces pathogènes, nous pouvons citer : *Erysipelothrix* (WANG et al., 2010), *Prevotella* (ILJAZOVIC et al., 2020), *Alistipes* (PARKER et al., 2020), etc. La dernière interrogation que l'on peut soulever ici est quel est le lien entre le mode de vie et l'identification de cette cohorte microbienne associée aux matières fécales?

5.4 Influence des paramètres environnementaux sur les communautés microbiennes

L'ensemble des observations qui ont pu être réalisées au cours de ce chapitre, nous a permis de remarquer une structuration des communautés microbiennes en fonction de la saison ou bien de la position de l'estuaire. Il semble que la zone urbaine influence d'une certaine façon les microorganismes. L'intérêt ici sera donc d'identifier si cette influence peut être en lien avec la présence de micropolluants. Pour ce faire, rappelons qu'au cours de ce projet de thèse, de nombreux contaminants organiques comme inorganiques ont été ciblés et leurs concentrations mesurées dans les différents échantillons.

5.4.1 Variables disponibles pour la caractérisation des différentes fractions de la communauté microbienne de l'eau

Afin d'identifier les facteurs influençant les communautés microbiennes, il est d'abord essentiel de rappeler les biais méthodologiques existant sur de telle mesure. Comme abordé dans le Chapitre 1.3.3.3, le seuil de séparation entre les fractions PA et FL n'est pas homogène dans la littérature scientifique. Cette séparation est d'abord une limite physique choisie lors de la filtration de ces deux fractions, pour rappel, dans le cadre de cette thèse, cette limite a été fixée à **3 µm**. Cette valeur est fréquemment employée pour cette séparation (LURIA et al., 2016 ; BACHMANN et al., 2018). Mais de nombreux auteurs ont choisi d'autres limites, comme 5 µm (HENRIQUES et al., 2004 ; RIECK et al., 2015), 10 µm (RIEMANN & WINDING, 2001) ou encore 30 µm (FUCHSMAN et al., 2011) (Chapitre 1, Figure 1.20). Ainsi, dans une volonté de clarté les fractions PA et FL seront traitées de façon dissociée dans cette section.

De nombreuses variables sont disponibles pour l'étude de l'influence des paramètres environnementaux, elles peuvent correspondre à quatre catégories principales : la **caractérisation de la matière organique**, les **paramètres abiotiques**, la **concentration en contaminants organiques** et **contaminants inorganiques**.

Pour la caractérisation de la matière organique, les variables disponibles varient quasi intégralement d'une fraction à l'autre. D'autant plus que pour la fraction dissoute s'ajoute les nombreux indices de la caractérisation de la matière organique dissoute **chromatique** (CDOM). A cette exception près, nous avons tenté dans la mesure de possible d'utiliser les mêmes variables pour les fractions FL et PA.

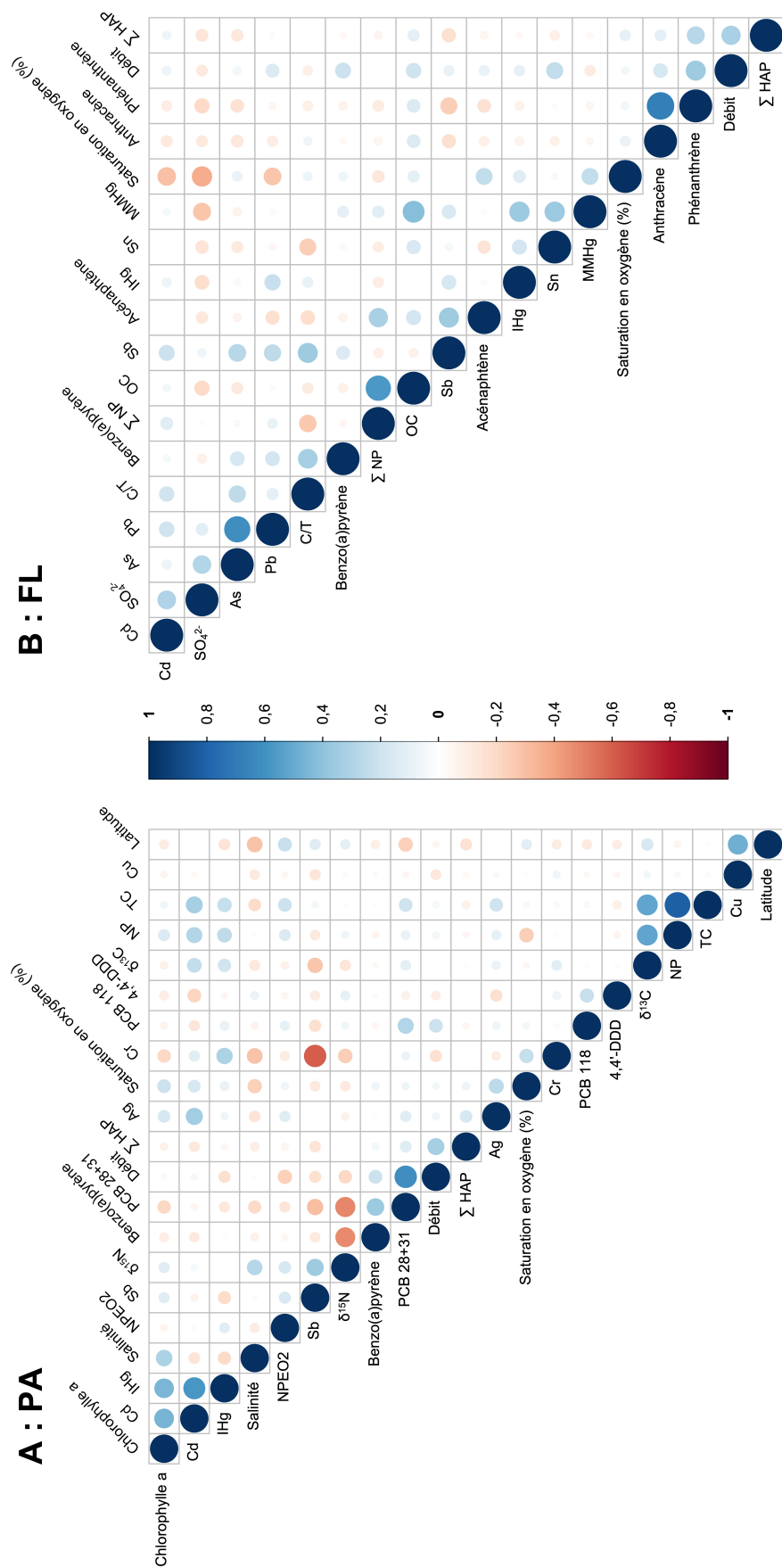


FIGURE 5.9 – Heatmap de la corrélation de Pearson entre les différentes variables environnementales sélectionnées pour les différentes fractions attachées (A : PA) et libres dans la colonne d'eau (B : FL). La couleur et la taille des cercles sont proportionnelles au coefficient de corrélation de Pearson.

Autrement, comme indiqué dans le Chapitre 3.5, l'envergure du jeu de données à disposition dans ce travail de thèse, est tel qu'en amont de toute interpolation entre les paramètres environnementaux et les données microbiologiques (16S), il est nécessaire de réduire le nombre de paramètres environnementaux employés. A titre d'exemple, nous disposons de respectivement 111 et 167 variables pour les fractions PA et FL avant toute filtration ou sélection des variables. En suivant, ces variables seront filtrées (surtout en fonction de la colinéarité) et pour certaines, comme les substances pharmaceutiques dans la fraction FL, elles seront aussi additionnées. L'ensemble des variables sélectionnées pour chaque fraction est illustré par la figure 5.9. Y sont représentées les variables non colinéaires pouvant être utilisées afin d'interroger l'influence des paramètres environnementaux sur les communautés microbiennes dans les eaux de l'estuaire de l'Adour. Le coefficient de corrélation entre des variables différentes est compris entre -0,61 (Cr et Sb) et 0,81 (TC et NP) pour la fraction PA, et entre -0,36 (salinité et saturation en oxygène) et 0,68 (anthracène et phénanthrène) pour la fraction FL. Néanmoins, 90% des valeurs de ces matrices de corrélation sont comprises dans les intervalles allant de -0,23 à 0,34 ou de -0,19 à 0,35 pour respectivement les fractions PA et FL. Ces valeurs étant relativement faibles ou proches de zéro, cela nous permet de valider l'absence d'une corrélation forte entre les différentes variables.

5.4.2 Paramètres majoritaires influençant les communautés microbiennes

Après filtration des variables, une PERMANOVA est réalisée afin d'identifier les variables présentant un effet significatif sur les communautés microbiennes. Pour la fraction PA, dix paramètres dont quatre métaux (l'antimoine, Sb, le cadmium, Cd, l'argent, Ag et le mercure inorganique, IHg), quatre contaminants organiques (la somme des hydrocarbures aromatiques polycycliques, Σ HAP, le nonylphénol, NP, le benzo(a)pyrène et les PCB 28+31) et deux paramètres abiotiques (le débit fluvial et la salinité) présentent significativement un effet sur les communautés microbiennes (Tableau 5.2). Pour la fraction FL, six paramètres présentent un effet significatif sur les communautés microbiennes, dont cinq paramètres appartenant à la catégorie des contaminants inorganiques et organométalliques, précisément de Sb, l'arsenic (As), le plomb (Pb), l'étain (Sn) et le monométhylmercure, MMHg (Tableau 5.3) et un paramètre hydrologique, le débit fluvial. A l'exception du débit fluvial et la salinité, l'ensemble de ces paramètres correspondent à des contaminants prioritaires connus pour leurs multiples effets délétères sur les écosystèmes ainsi que les microorganismes. Plus précisément, les métaux, métalloïdes et organométaux (Sb, As, Cd, Ag, Pb, Sn, IHg ou MMHg) correspondent à des éléments souvent décrits parmi les composés les plus toxiques pouvant être identifiés dans les écosystèmes.. Les microorganismes sont sensibles à la présence de métaux (YIN et al., 2015 ; LI et al., 2020). Leurs effets peuvent être antagonistes, par exemple, en altérant ou augmentant la fitness, soit sa capacité d'un individu à se reproduire, (cf. Chapitre 1.4.1) des microorganismes (GUO et al., 2017).

TABLEAU 5.2 – PERMANOVA estimant la contribution relative des variables environnementales sur les communautés microbiennes attachées aux particules dans la colonne d'eau (PA) d'après l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis. Les valeurs représentent le ratio pseudo-F (F) et le niveau de significativité du test de permutation de Monte-Carlo (999 répétitions), les valeurs significatives sont indiquées en gras.

Variabes environnementales	Ratio pseudo-F (F)	<i>p</i>
Sb	5.49	0.001
Cd	3.49	0.007
Cr	1.40	0.199
Ag	3.67	0.004
IHg	4.07	0.003
NP	2.13	0.043
NPEO2	1.44	0.184
Benzo(a)pyrène	2.21	0.003
PCB 118	1.52	0.134
PCB 28+31	3.74	0.004
∑HAP	1.86	0.039
Débit fluvial	5.86	0.001
Latitude	1.18	0.281
Saturation en oxygène (%)	1.73	0.116
Salinité	2.88	0.015
Chlorophylle a	1.10	0.321

Sb : Antimoine ; Cd : Cadmium ; Cr : Chrome ; Ag : Argent ; IHg : Mercure inorganique ; NP : Nonylphénol ; NPEO2 : Nonylphénol diéthoxylé ; PCB : Polychlorobiphényles ; ∑ HAP : Somme des hydrocarbures arotmatiques polycycliques

Bien que les jeux de données FL et PA soient traités distinctement, un effet significatif du mercure (sous différentes formes IHg ou MMHg), de l'antimoine (Sb) et du débit fluvial est observable sur les communautés microbiennes (Tableaux 5.2 et 5.3).

Quatres contaminants organiques ont été identifiés comme impactant les communautés microbiennes PA, le NP, le benzo(a)pyrène, la ∑HAP et les PCB 28+31. Hormis le NP, ces composés sont fréquemment reconnus comme des contaminants correspondant à des profils de contamination plutôt historique, chronique et surtout persistante. Les HAP et les PCB appartiennent à la catégories des polluants organiques persistants (POP). Le PCB 28 est un PCB indicateur et non un PCB-DL mais il reste un élément toxique (DAVIS et al., 2007). Ces contaminants organiques sont connus pour leurs effets délétères impactant négativement la fitness des organismes composant les communautés microbiennes (QUERO et al., 2015). Cependant, ils représentent aussi une source de carbone pouvant être exploitée par certains microorganismes (SONG et al., 2015 ; WEILAND-BRÄUER et al., 2017). Dans ces deux cas, ils vont modifier et impacter la structuration de l'ensemble de la communauté microbienne. De plus, il n'est pas surprenant d'observer un effet significatif de ces POP sur les communautés microbiennes associées aux particules (PA).

TABLEAU 5.3 – PERMANOVA estimant la contribution relative des variables environnementales sur les communautés microbiennes libres dans la colonne d'eau (FL) d'après l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis. Les valeurs représentent le ratio pseudo-F (F) et le niveau de significativité du test de permutation de Monte-Carlo (999 répétitions), les valeurs significatives sont indiquées en gras.

Variables environnementales	Ratio pseudo-F (F)	<i>p</i>
Sb	5,70	0,001
As	2,80	0,022
Cd	1,30	0,213
Pb	1,80	0,047
Sn	3,80	0,004
IHg	1,20	0,242
MMHg	3,40	0,006
Saturation en oxygène (%)	1,20	0,251
Débit fluvial	3,20	0,003
C/T	1,60	0,114
SO₄²⁻	0,94	0,465
Acénaphène	1,70	0,051
Benzo(a)pyrène	1,70	0,108
∑NP	1,40	0,210

Sb : Antimoine ; As : Arsenic ; Cd : Cadmium ; Pb : Plomb ; Sn : l'étain ; IHg : Mercure inorganique ; MMHg : monométhylmercure ; C/T : un indice de la fluorescence 2D de la matière organique dissoute chromophorique (CDOM) ; SO₄²⁻ : sulfate ; ∑ NP : Somme du nonylphénols, du nonylphénol mono-éthoxylé (NPEO1) et du nonylphénol diéthoxylé (NPEO2)

Les sédiments pouvant agir comme réservoir de contamination pour le reste de la colonne d'eau (BORJA et al., 2005 ; SERAFIM et al., 2013), il est attendu d'observer des concentrations plus élevées et par conséquent un effet plus marqué sur les microorganismes attachés aux particules.

Afin d'approfondir ces observations, des réseaux de co-occurrence microbiens ont été réalisés (Figures 5.10A et 5.11A). A l'inverse du réseau décrit à la section 5.3.2.2, ici, les fractions FL et PA ont été traitées distinctement puisque les variables environnementales sélectionnées sont propres à chaque fraction. Les paramètres topologiques, déjà abordées précédemment, de ces réseaux sont décrites en Annexes (Tableau A5.1). Ces réseaux sont composés respectivement de 241 et 258 noeuds se répartissant en 9 et 11 modules (composés de 5 noeuds ou plus) pour les fractions PA et FL (Figures 5.10A et 5.11A). Parmi ces modules, 8 (1, 2, 4, 5, 6, 7, 8 et 9 pour PA) et 6 (1, 2, 3, 5, 7 et 8 pour FL) sont significativement corrélés au moins à un paramètre environnemental (Figures 5.10B et 5.11B).

La corrélation entre les variables et les communautés microbiennes repose sur des méthodes différentes entre la PERMANOVA et les réseaux de co-occurrence, ainsi, il n'est pas étrange d'observer que certaines variables soient significatives dans un premier temps avec la PERMANOVA mais non corrélées avec les modules microbiens, et inversement (l'Ag, le NP, le benzo(a)pyrène et la ∑HAP pour les PA ; l'As et le Pb pour les FL).

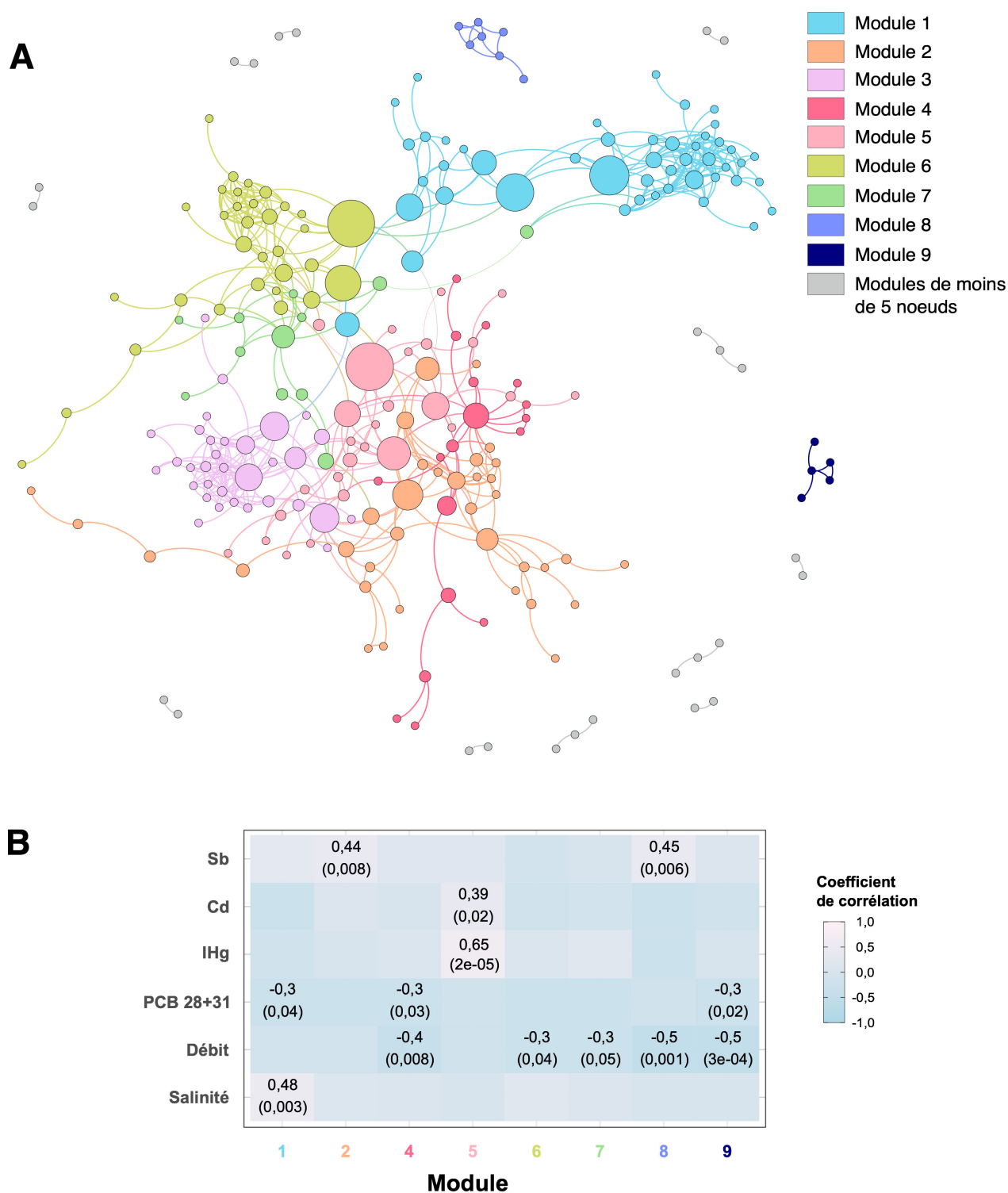


FIGURE 5.10 – Réseau microbien de co-occurrence de la fraction PA (A) dans les eaux de l'estuaire de l'Adour. Chaque nœud correspond à un ASV et la taille des nœuds est proportionnelle à la valeur de la centralité intermédiaire. En couleur, sont indiqués les modules composés d'au moins 5 nœuds. Heatmap (B) de la corrélation de Spearman entre les modules et les paramètres environnementaux sélectionnés. Seules les corrélations présentant une p-value (indiquée entre parenthèses) supérieures ou égale à 0,05 sont représentées.

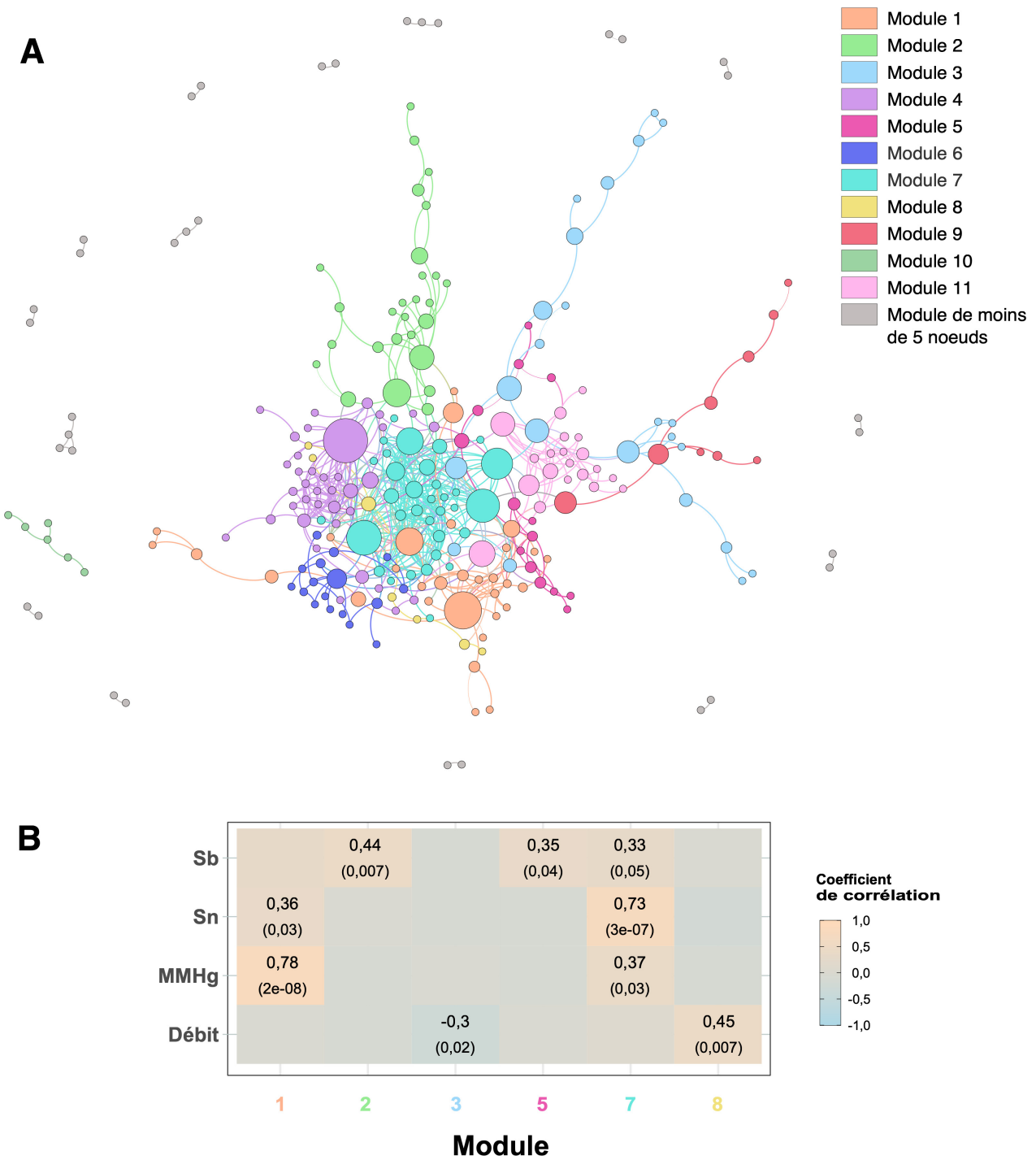


FIGURE 5.11 – Réseau microbien de co-occurrence de la fraction FL (A) dans les eaux de l'estuaire de l'Adour. Chaque nœud correspond à un ASV et la taille des nœuds est proportionnelle à la valeur de la centralité intermédiaire. En couleur, sont indiqués les modules composés d'au moins 5 nœuds. Heatmap (B) de la corrélation de Spearman entre les modules et les paramètres environnementaux sélectionnés. Seules les corrélations présentant une p-value (indiquée entre parenthèses) supérieures ou égale à 0,05 sont représentées.

Le plus intéressant reste cependant le cas de figure inverse, c'est-à-dire, un paramètre impactant significativement les communautés microbiennes et corrélé à un ou plusieurs modules simultanément. Cela nous permet d'identifier les microorganismes pouvant être directement impactés par ces paramètres et surtout certains contaminants. Cette situation est observable notamment pour le Cd qui est corrélé avec 1 module (5 pour la fraction PA), les PCB 28+31 avec 3 modules (1, 4 et 9 pour la fraction PA), le Sb avec 5 modules (2 et 8 pour la fraction PA et 2, 5 et 7 pour la fraction FL) ainsi que le Sn et MMHg corrélés tous deux avec 2 modules (1 et 7 pour la fraction FL) (Figures 5.10B et 5.11B). Dans la cadre de cette thèse, l'approfondissement de l'exacte composition de ces modules ne sera pas abordée, cependant, elle serait intéressante puisqu'ici nous sommes en mesure d'observer à une échelle fine, l'impact des contaminants sur les communautés microbiennes et les ASV qui les composent.

5.5 Diversité et structuration fonctionnelle des communautés microbiennes attachées aux particules

Jusqu'à présent la relation liant les communautés microbiennes dans l'estuaire de l'Adour aux profils de contaminants est fonction de la variabilité de la structuration des communautés microbiennes obtenue principalement sur la base de l'étude du gène codant de l'ARNr 16S. Ainsi, on associe une variation dans la structuration des communautés microbiennes à certains facteurs environnementaux. Afin d'approfondir ces observations, des analyses en Geochip ont été réalisées. Ces analyses, proposées par le laboratoire Glomics Inc. (Norman, Oklahoma, Etats-Unis), permettent de caractériser les fonctions présentes au sein des communautés microbiennes (HE et al., 2007; SHI et al., 2019). L'intérêt principal de cette analyse repose sur le nombre très large de gènes étudiés, ainsi que par le fait qu'un nombre conséquent de ces gènes soit lié aux fonctions clés impliquées dans la réponse à la présence de polluants analysés dans le cadre de cette étude. Ces gènes sont impliqués dans le stress oxydant, l'homéostasie métallique ou encore la dégradation des contaminants organiques. Ces analyses ont uniquement été réalisées sur la fraction correspondant aux microorganismes attachés aux particules (PA) sur des sites sélectionnés en fonction des premiers résultats du séquençage de l'ADN 16S afin de se focaliser sur les sites les plus caractéristiques de l'estuaire de l'Adour (cf. Chapitre 2.4.3, Figure 2.11). Les puces employées sont les Geochip 5.0M recouvrant un total de 180 000 amorces.

5.5.1 Diversité des fonctions observées

Pour un total de 18 échantillons, **1 344** familles de gènes ont été identifiés. Ces gènes sont regroupés au sein de **17** catégories et 136 sous-catégories. L'abondance relative des principales catégories et sous-catégories observées par site quelle que soit la saison est illustrée par les figures 5.12 et 5.13. Parmi ces 17 catégories de gènes observés, 10 d'entre elles représentent en moyenne 95% du signal relatif observé, les 7 autres catégories présentent une moyenne d'abondance par site inférieure à 2%. Quatre catégories de gènes présentent des abondances relatives nettement supérieures aux autres, il s'agit précisément de l'**homéostasie métallique** (en moyenne 26%, Figure 5.13F), le **stress** (en moyenne 17%, Figure 5.13I), la **résistance aux antibiotiques** (en moyenne 15%, Figure 5.13G) et le **cycle du carbone** (en moyenne 15%, Figure 5.12B).

Ces observations sont à rapprocher du design des puces à ADN. Les catégories les plus fréquemment observées peuvent à la fois être la résultante du matériel génétique présent dans les échantillons mais sont surtout représentatives des amorces et gènes ciblés lors de la programmation des puces (ZHOU et al., 2015).

Au-delà de la description des catégories de gènes présents dans les échantillons, il est à noter que l'abondance relative de ces catégories de gènes est, à quelques exceptions, très régulière par site. Ces observations sont néanmoins contrariées par de légères variations d'abondances des catégories pour les sites 7 et 9, qui

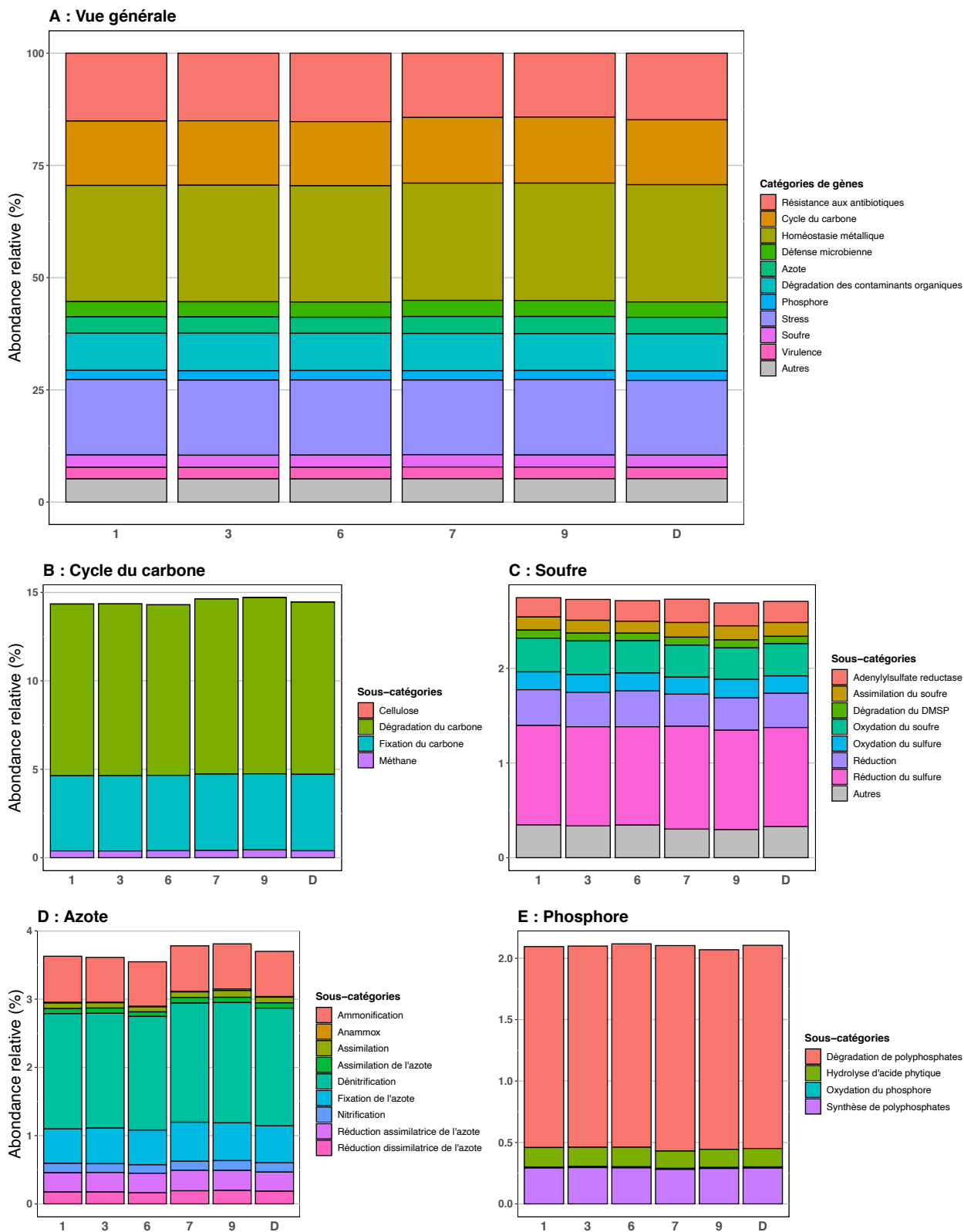


FIGURE 5.12 – Abondances relatives des catégories et sous-catégories de gènes par site dans les eaux (fraction particulaire), obtenues à partir des analyses de Geochip (1/2).

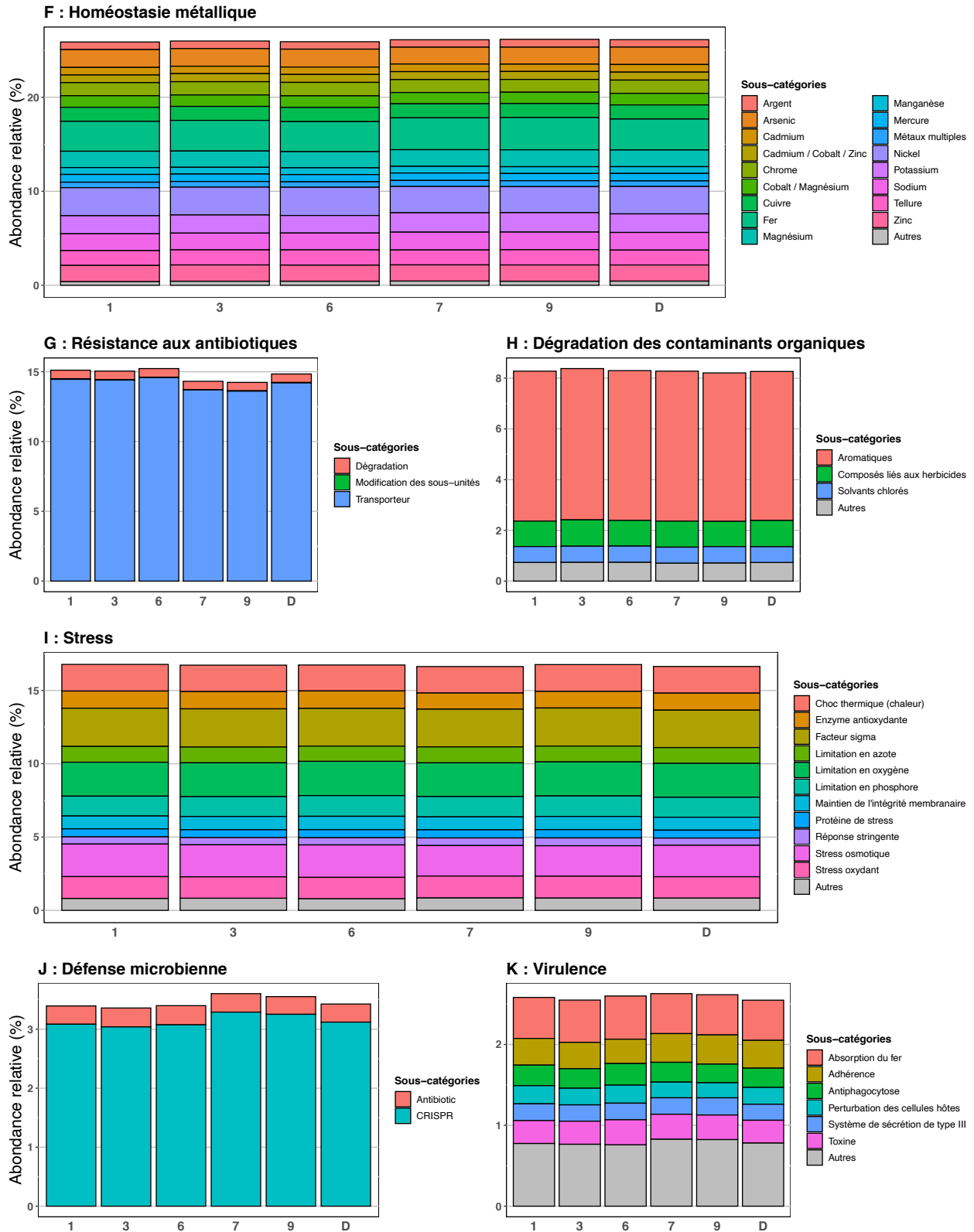


FIGURE 5.13 – Abondances relatives des catégories et sous-catégories de gènes par site dans les eaux (fraction particulaire), obtenues à partir des analyses de Geochip (2/2)

présentent tantôt une abondance plus importante pour les gènes correspondant au cycle du carbone (Figure 5.12B) et de l'azote (Figure 5.12D) ainsi que la défense microbienne (Figure 5.13J), tantôt une abondance plus faible pour notamment les gènes impliqués dans la résistance aux antibiotiques (Figure 5.13G).

La régularité des profils d'abondance des catégories est directement liée à la distribution des gènes dans les échantillons. En effet, au total, **82% des gènes détectés l'ont été dans l'ensemble des échantillons**. Ces observations sont en accord avec des analyses réalisées avec les Geochips pour la caractérisation des communautés microbiennes dans divers environnement (BAI et al., 2012; BAYER et al., 2014).

5.5.2 Influence de la position le long de l'estuaire et de la saison

Le pourcentage de gènes détectés (sur un total de 1 344) a été calculé par site, ainsi que le pourcentage de gènes partagés entre deux sites. Ces valeurs sont résumées dans le tableau 5.4. Les valeurs les plus importantes sont observées pour les sites 7 et 9 au printemps et en été. Le plus remarquable reste qu'en majorité, le pourcentage de gènes partagés entre site est très élevé, la **valeur minimale observée est de 85%**, elle est obtenue entre les **sites 1 (printemps) et 6 (été)** (Tableau 5.4).

TABLEAU 5.4 – Pourcentage de gènes détectés par site et partagés entre sites dans l'eau de l'estuaire de l'Adour pour la fraction des microorganismes attachés aux particules (PA).

	Printemps						Été						Hiver						
	1	3	6	7	9	D	1	3	6	7	9	D	1	3	6	7	9	D	
Printemps (AD1)	1	87,9																	
	3	87,3	92,3																
	6	86,7	90	90,7															
	7	87,3	91,7	90,1	93,2														
	9	87,7	92	90,2	92,6	95,2													
	D	87	90,1	89,2	90,6	91,6	92,2												
Été (AD2)	1	86,2	88	87,5	88,2	88,4	87,7	88,9											
	3	87,3	90	89,1	90,2	90,2	89,4	88	90,8										
	6	85,1	86,8	86,6	86,9	86,8	86,4	85,6	86,8	87,2									
	7	87,7	92	90,3	92,9	94,3	91,7	88,8	90,6	87	96,3								
	9	86,2	89	88,1	89,2	90,1	88,8	86,8	88,3	85,3	90,1	91,4							
	D	87	90	89,1	90,5	90,9	90	88,1	89,7	86,5	91	88,5	91,4						
Hiver (AD3)	1	87,6	90,9	90	91,8	92,3	90,7	88,5	90,2	87	92,7	89,3	90,8	93,2					
	3	87,4	91,2	89,9	91,7	92,2	90,3	88,1	90	86,8	92,3	89,2	90,4	91,6	92,8				
	6	85,6	87,9	87,8	88,2	88,3	87,9	86,4	87,5	85,7	88,6	87	87,6	88,2	88,1	89			
	7	87,7	91,4	90,1	92,1	93,2	91,3	88,6	90,5	87	93,6	89,5	90,8	92,3	91,7	88,1	94,3		
	9	87,6	91,3	90	92,3	92,6	90,8	88,5	90,3	87,1	92,7	89,6	90,6	92,2	91,9	88,4	92,6	93,4	
	D	87,7	91,5	90	92,3	93,4	91,2	88,5	90,2	86,8	93,8	89,7	90,8	92,3	92,2	88,4	92,9	92,6	94,3

Au-delà du nombre de gènes partagés, nous avons voulu valider ces observations en prenant en compte les gènes et leurs abondances relatives dans les échantillons. Pour ce faire, nous avons calculé l'indice de similarité de Bray-Curtis entre sites (Figure 5.14).

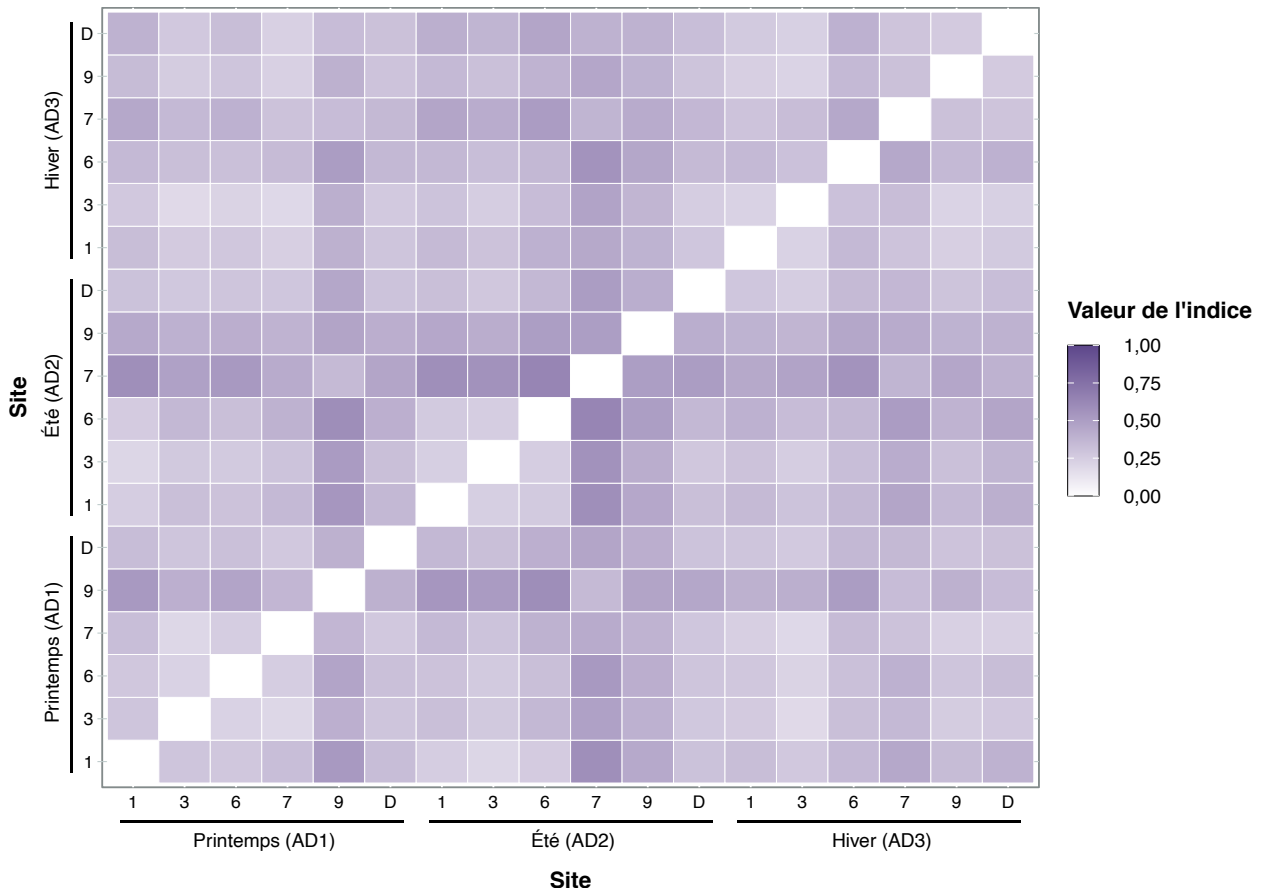


FIGURE 5.14 – Heatmap de l'indice de dissimilarité (Bray-Curtis) entre sites calculée à partir du profil d'abondance des gènes détectés par les puces à ADN (geochip).

Deux sites se démarquent rapidement de cette représentation : les **sites 9 (au printemps)** et **7 (en été)**. Ces sites correspondent aux observations faites auparavant, caractérisant les sites présentant un nombre important de gènes détectés. Cette démarcation en termes de nombre de gènes détectés peut évidemment être rapprochée aux valeurs de similarité. Plus des gènes sont présents dans certains sites spécifiquement, plus la similarité entre ces sites et les autres va diminuer. Au-delà, ce qui est surprenant est l'absence de structuration des échantillons. La position le long de l'estuaire ou bien la saison ne semblent pas influencer la composition du potentiel fonctionnel des communautés microbiennes, suggérant une redondance fonctionnelle.

5.6 Conclusion

La structuration et la diversité des communautés microbiennes en milieu aquatiques restent un point clef de la description et la composition des écosystèmes. En milieu estuarien, ces communautés microbiennes se retrouvent dans des écosystèmes extrêmement **hétérogènes** que ce soit dans le **temps** ou dans l'**espace**. A cela s'ajoute la vulnérabilité de ces écosystèmes face aux développements des activités humaines et à leurs conséquences multiples en zone littorale et estuarienne. Afin d'identifier l'impact de ces activités et plus spécifiquement l'impact de la contamination chimique dans ces écosystèmes, **il est essentiel dans un premier temps de les caractériser et de comprendre leur dynamisme afin d'isoler au mieux la variabilité « naturelle » de la variabilité due à la pression exercée par la présence de contaminant(s).**

La description des communautés microbiennes aquatiques doit prendre en compte la variabilité des modes de vie des organismes colonisant ces environnements. Comme présenté dans ce chapitre, deux modes de vie se distinguent : **libre et attaché**. On a pu remarquer que **ces deux fractions correspondent des groupes relativement distincts bien que la similarité entre ces deux fractions suggère un certain niveau de connectivité ou de relation entre eux.**

Au regard de la diversité alpha ou de la composition en microorganismes (ASV), ces deux fractions sont très similaires, alors que des **différences s'observent au niveau structurel**. Les communautés microbiennes associées aux particules sont influencées par la **saison, notamment hivernale, et la position le long de l'estuaire**. Une structuration similaire est observée pour les sédiments. Les communautés microbiennes libres dans la colonne d'eau sont structurées selon la position le long de l'estuaire, inversement, l'influence de la saison est ici plus négligeable.

Une communauté microbienne estuarienne stable se met en place en association avec les particules de l'amont à l'aval de l'estuaire. Cette communauté change **au niveau de la zone urbaine** de Biarritz-Bayonne-Anglet. **Cette perturbation est aussi visible pour les microorganismes libres dans la colonne d'eau, en cohérence avec un mélange plus important pour ces communautés.**

Une sous-partie de la communauté microbienne présente indistinctement dans les deux fractions a pu être isolée au sein d'un réseau de co-occurrence microbien. Cette sous-partie commune semble être présente en majorité dans les **sites « Urbain »** et être issue des STEU. La composition microbienne de ce réseau microbien commun correspond une signature « humaine » des STEU soit concrètement, des bactéries fécales humaines (NEWTON et al., 2013; MCLELLAN et al., 2010; LAMARTINA et al., 2021).

Au-delà de l'influence de la saison ou la position sur le long de l'estuaire, nous avons pu observer une **relation significative** entre les **communautés microbiennes** et 11 **contaminants**, soit 7 métaux (Sb, Hg dont IHg et MMHg, Ag, Cd, As, Pb et Sn), 4 contaminants organiques (NP, benzo(a)pyrène, \sum HAP et PCB 28+31) et 2 paramètres abiotiques (débit fluvial et salinité). L'ensemble des contaminants organiques présentaient une relation significative avec les microorganismes associés aux particules. Ainsi, la matière organique particulaire

représente un ligand pour certains contaminants et favorise les interactions microorganismes-contaminants. Pour l'ensemble des matrices, les sédiments, les microorganismes libres dans la colonne d'eau (FL) et ceux associés aux particules (PA), on a pu remarquer un effet significatif de **polluants historiques et chroniques** tels que les **contaminants métalliques prioritaires**.

Chapitre 6

Conclusion et perspectives

Les estuaires sont des **écotones** remarquables par leur hétérogénéité, leur diversité ou encore leur productivité. La présence et le développement des activités humaines peut fragiliser cet écosystème particulièrement **sensible**.

L'évaluation de la pollution chimique peut être particulièrement complexe et son évaluation dépendante de l'évolution des techniques analytiques et des bioindicateurs disponibles. La définition même de la pollution chimique et des mesures de protection de l'environnement évoluent avec nos connaissances.

Le contrôle ou l'interdiction réglementaire de certains éléments ou molécules permet d'observer une diminution de leurs concentrations dans les écosystèmes aquatiques à l'image de certains contaminants métalliques (BOUTIER et al., 2011), ou certains pesticides (MILLER et al., 2008). Cependant, la seule analyse des concentrations en polluants réglementés ne permet pas d'évaluer la pression d'exposition des organismes aquatiques. Cette approche négligerait la diversité réelle des polluants présents dans le milieu, leur réactivité, leur spéciation, leur transformation ou encore les interactions existantes.

Dans le cadre du projet **MICROPOLIT**, ce travail de thèse a pour objectif ambitieux d'évaluer de la pression chimique en milieu estuarien par le couplage d'une **approche chimique et biologique** afin de confronter les concentrations en micropolluants réglementés et émergents à la structure des communautés microbiennes et ce, dans différents compartiments (**l'eau, les particules et le sédiment**) de sites soumis à des **pressions hétérogènes** et échantillonnés sur plusieurs **saisons**.

6.1 Les micropolluants dans l'estuaire de l'Adour

Les différentes matrices ciblées se distinguent par leur profil de contamination, la matrice sédimentaire présentant un nombre de substances détectées et des niveaux de micropolluants bien plus importants que les

matrices aquatiques. Les sédiments se comportent comme un **compartiment intégrateur**, où les micropolluant tendent à s'accumuler. Ce sont des réservoirs de micropolluants qui peuvent en fonction des conditions environnementales distinctement accumuler ou relâcher des micropolluants dans le milieu aquatique. Ceci est dû, en partie, au fait que la majorité des micropolluants présente une affinité importante pour la matière organique et que les matrices sédimentaires sont relativement stables.

Parmi les contaminants suivis dans le cadre de ce travail de thèse, les composés pharmaceutiques et notamment les **antibiotiques** sont apparus comme des molécules ubiquistes, quantifiées dans chaque matrice et pour chaque saison. Ces composés pharmaceutiques sont synthétisés dans le but de lutter contre les microorganismes. Ils représentent une menace pouvant altérer la structure et/ou la composition des communautés microbiennes en modifiant la survie de certains organismes et en favorisant d'autre possédant d'éventuels gènes de résistance (GULLBERG et al., 2011; OBERLÉ et al., 2012; MICHAEL et al., 2013; ANDERSSON & HUGHES, 2014; ESTRELA & BROWN, 2018). D'autant que le maintien de gène de résistance est lui aussi coûteux en terme de fitness pour un organisme (HAENNI et al., 2022).

De plus, les microorganismes développent des mécanismes de résistance aux antibiotiques, qui développés par des microorganismes pathogènes devient un problème de santé humaine. Des études ciblant spécifiquement les gènes de résistance aux antibiotiques (ARG) et les éléments génétiques mobiles responsable de transfert horizontal (plasmide, transposon et intégron) permettraient de mieux comprendre les règles d'assemblage des communautés microbiennes et aussi les mécanismes de diffusion de la résistance aux antibiotiques (XIONG et al., 2015; BOTTERY et al., 2020).

6.2 Structure et composition des communautés microbiennes

Les communautés microbiennes des différentes matrices de l'estuaire de l'Adour présentent une composition relativement similaire, alors que des différences plus nettes étaient attendues, car ces matrices représentent des habitats différents (ZHANG et al., 2014; WEI et al., 2016; MATCHER et al., 2018). Deux phylums, *Proteobacteria* et *Bacteroidetes*, dominant largement et assez équitablement les communautés microbiennes des différentes matrices. D'autres phylums moins abondants comme les *Verrucomicrobia* ou les *Firmicutes*, sont aussi présents équitablement dans ces différentes matrices. Inversement, certains phylums présentent eux une spécificité pour une matrice : les *Desulfobacterota* pour les sédiments ou encore les *Actinobacteria* pour les matrices aqueuses. L'influence de la zone marine est bien plus forte sur les communautés aquatiques que sédimentaires, la présence de groupes microbiens marins est directement lié avec la salinité. A cette exception près, par notre choix d'échantillonner à marée descendante et du fait de la chenalisation de l'estuaire de l'Adour, la salinité qui fréquemment est décrite comme un facteur structurant clef des écosystèmes (LOZUPONE & KNIGHT, 2007; XIE et al., 2014), est peu influente dans le cadre de l'estuaire de l'Adour.

Bien que chaque matrice présente une communauté microbienne relativement spécifique, en terme de struc-

turation, les communautés microbiennes des différentes matrices semblent s'agencer en un **gradient**. Ainsi, une structuration commune a été observée le long de l'estuaire dans laquelle les communautés microbiennes sédimentaires semblent être associées à celles observées dans la colonne d'eau (les communautés microbiennes associées aux particules, PA, surtout).

La structure des communautés microbiennes sédimentaire est similaire à celle des communautés microbiennes associées aux particules (PA). Elles sont d'abord fortement structurées par la saison, avec des différences notables observées en hiver. De plus, au printemps et en été, ces communautés microbiennes sont caractérisées par une forte structuration en fonction des sites suivant leur localisation le long de l'estuaire de l'Adour, ce qui a permis de définir trois types de sites : « **Amont** », « **Aval** » et « **Urbain** ».

Une première nuance est observable entre les deux matrices, la structuration le long de l'estuaire est clairement visible dans le cas des sédiments, alors qu'elle est plus confuse pour les microorganismes associés aux particules (PA). Pour ces PA, le regroupement des sites « Urbain » est toujours observable mais la distinction entre les sites « Amont » et « Aval » est moins évidente. Évidemment, les différences méthodologiques dans l'échantillonnages des différentes matrices pourraient expliquer la dissociation entre les communautés. Mais, la nature même des différentes matrices, assurant plus ou moins de stabilité, pourrait aussi être un facteur déterminant ces différences. Ainsi, les communautés microbiennes associées aux particules (PA) montrent une connexion le long de l'estuaire, formant un **continuum** qui se met en place de l'amont vers l'aval. Cette observation suggère que le taux de mélange et de brassage des communautés microbiennes semble être plus important dans la matrice aqueuse. Ce continuum n'est perturbé que très localement à proximité de la zone urbaine de Bayonne-Biarritz-Anglet, et surtout à proximité des rejets de station de traitement des eaux usées (STEU).

A l'inverse des sédiments et des PA, les communautés microbiennes libres dans la colonne d'eau (FL) présentent une structuration plus singulière et hétérogène. La saison et la localisation semblent ne pas être aussi structurants pour ces communautés. Néanmoins, les communautés FL montrent aussi un continuum estuarien, perturbé ici aussi localement par les différents rejets de STEU et la présence de la zone urbaine. Ainsi, un réel gradient entre les communautés microbiennes est observé, partant d'une communauté microbienne sédimentaire rigide, fortement structurée allant vers une communauté microbienne de la matrice FL bien plus connectée et mélangé au sein de l'estuaire de l'Adour.

6.3 L'impact des micropolluants sur les communautés microbiennes

La structuration des communautés microbiennes en fonction de la localisation dans l'estuaire, influencée notamment au niveau de la zone urbaine et des rejets de STEU, suggère une influence des micropolluants

sur la structuration des communautés microbiennes. Afin de comprendre l'influence des facteurs environnementaux sur la structuration des communautés microbiennes, nous avons tout d'abord réduit le nombre de variables, puis utilisé différents outils statistiques afin de créer des réseaux microbiens de co-occurrence, corrélation entre l'ensemble ou une sous-partie de la communauté microbienne et les variables conservées.

Quelle que soit la matrice, les métaux comptent parmi les facteurs environnementaux structurants. Ainsi, les communautés sédimentaires sont influencées par la présence de l'arsenic (As), du cuivre (Cu), du manganèse (Mn), de l'étain (Sn), du titane (Ti) et du zinc (Zn). Les communautés PA sont, elles, influencées par l'argent (Ag), l'antimoine (Sb), le cadmium (Cd), et le mercure inorganique (IHg). Finalement, les communautés FL sont fortement influencées par Sb, As, Sn, le plomb (Pb) et le méthylmercure (MMHg). Pour les sédiments, la structuration des communautés microbiennes est aussi influencée par quatre résidus pharmaceutiques : **l'aténolol, l'hydroxychlorotyazide, l'acide oxolinique et le triméthoprime**. Ces observations sont relativement cohérentes au regard des profils de contaminations, les métaux et les résidus pharmaceutiques étant les plus fréquemment quantifiés quelle que soit la matrice et la saison.

L'analyse des réseaux microbiens nous a permis d'identifier précisément des corrélations entre certains de ces micropolluants et des cohortes d'ASV formant des modules clefs dans l'organisation des communautés microbiennes. Pour les communautés microbiennes sédimentaires, cette corrélation a été observée pour l'As, le Mn et surtout le couple triméthoprime/l'acide oxolinique, deux antibiotiques impliqués dans le traitement des infections urinaires. De nombreux ASV pouvant correspondre à différents genres ou familles ont été identifiés comme des ASV clefs dans les modules corrélés avec les micropolluants. Ces ASV représentent de potentiels **bioindicateurs** ou « **sentinelles** ». Ils constituent d'éventuels marqueurs de pollution (CARUSO et al., 2016), pouvant être inclus dans des outils de surveillance intégratifs permettant d'évaluer l'état de santé des écosystèmes. Dans les sédiments, nous nous sommes particulièrement focalisés sur le genre *Nitrospira*, qui a été observé dans presque chacun des modules corrélés aux micropolluants. Cette omniprésence est très probablement à associer avec l'implication de *Nitrospira* dans le cycle de l'azote, surtout par sa capacité à oxyder complètement l'ammonium (comammox) ainsi que ces capacités d'adaptation et de tolérance face à la présence de contaminants organiques et inorganiques. Il n'en reste pas moins, que ce genre peut être défini comme un éventuel partenaire aidant ou favorisant la colonisation du milieu, ainsi il s'agit d'un genre clef dans la colonisation de nombreux écosystèmes. L'intégration et la pondération de tels microorganismes dans des outils de surveillance intégratifs pour évaluer l'état de santé des écosystèmes est elle aussi essentielle, d'autant que l'influence structurante de tels organismes et ses conséquences dans les écosystèmes contaminés ou perturbés restent inconnues.

6.4 L'influence des STEU sur les communautés microbiennes

Pour les matrices aqueuses, une claire influence des STEU a été observée sur le nombre, **la fréquence et la concentration de micropolluants qui sont tous plus marqués à proximité de la STEU de St-Frédéric (site 6)**. Ce site montre, pour les matrices FL et PA, des communautés microbiennes différentes de celle observées dans les autres sites. La communauté microbienne dans ce site semble donc bien dissociée du reste de l'estuaire. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer la dissimilarité observée au niveau du site affecté par le rejet de STEU : i) la présence de micropolluant altère drastiquement la structure et la composition des communautés microbienne ; ii) les rejets de STEU sont source de nutriments et de carbone organique diffusant dans les écosystèmes adjacents (rivières, estuaires, etc.) ; iii) les conditions abiotiques et hydrologiques locales (débits, température, oxygène, etc.) perturbent la croissance des microorganismes (CAREY et al., 2009 ; HAMDHANI et al., 2020). Ainsi, une **niche écologique**, présentant des pressions environnementales distinctes de celles observées dans les autres sites de l'estuaire, permet l'installation d'une communautés microbiennes spécifique à proximité du rejet. Une dernière hypothèse est que la STEU soit elle-même une source d'entrée de microorganismes dans l'estuaire. Ces hypothèses sont soutenues par diverses observations réalisées au cours de cette travail de thèse. Néanmoins, nous avons pu caractériser la présence d'une cohorte microbienne correspondant à des **bactéries fécales** en sortie de STEU (pour le FL+PA). Ces bactéries pourraient impacter la qualité des eaux de l'Adour et avoir des répercussions sur les activités de baignades s'installant en aval de l'estuaire de l'Adour (SHANKS et al., 2013).

Ces différentes hypothèses expliquant la dissimilarité observée pour le site influencé par la STEU de St-Frédéric agissent certainement en **synergie**, ce qui rend difficile l'identification précise et distincte de l'impact des micropolluants, de la matière organique, des conditions abiotiques ou de la présence d'un communauté microbienne issue des STEU. Pour ce faire, des analyses supplémentaires seraient nécessaires, un échantillonnage focalisé sur les matrices aqueuses et les rejets de STEU précisément pourraient permettre d'identifier plus précisément les facteurs structurants agissant sur les communautés microbiennes en sorties de STEU. Puis, idéalement nous permettre de mieux caractériser l'effet des STEU sur la présence des micropolluants et les conséquences de cette présence sur l'écosystème estuarien.

6.5 Les microorganismes : des bioindicateurs de l'état de santé des écosystèmes

La sensibilité des microorganismes aux contaminants, leurs temps de génération courts et leur versatilité face aux variations de leur environnement, permet d'envisager de les utiliser comme **indicateurs de la santé des écosystèmes** (AGER et al., 2010 ; SUN et al., 2012 ; XU et al., 2014 ; AYLAGAS et al., 2017). L'avènement des NGS (*Next Generation Sequencing*), approche rapide et peu coûteuse, offre l'opportunité

d'analyser facilement le compartiment microbien. Ils représentent donc une **alternative** aux bioindicateurs aquatiques actuels qui sont majoritairement basés sur des inventaires de macroinvertébrés (LEAR et al., 2009). D'ailleurs, de multiples auteurs ont tenté de construire de tels bioindicateurs (LAU et al., 2015 ; AYLAGAS et al., 2017 ; NIU et al., 2018).

Pour l'heure, il semble néanmoins que la réponse des communautés microbiennes aux contaminations et à l'état de santé des écosystèmes se confronte à un manque de sensibilité du compartiment microbien, notamment lorsque les sites sont relativement peu pollués (LEAR et al., 2009). Ce manque de sensibilité est probablement associé aux capacités de résistance et de résilience des communautés microbiennes en réponse aux perturbations de faible amplitude, ne permettant pas de définir des indicateurs ou des estimateurs suffisamment pertinents. A titre d'exemple, est-il judicieux de cibler l'intégralité de la communauté microbienne, un sous-groupe indicateur ne serait-il pas plus pertinent ? Ou encore, le simple profil phylogénétique, basé sur le gène de l'ARN 16S, est-il suffisant pour construire un bioindicateur reportant l'état de santé des écosystèmes ?

Le signal phylogénétique est extrêmement dépendant du niveau de connaissance existant sur chaque ASV/espèce observée. De plus, comme montré au Chapitre 4 avec *Nitrospira*, certains genres bactériens peuvent correspondre à différentes espèces voire différents écotypes, qui correspondent à des microorganismes écologiquement et métaboliquement distincts. Ainsi, la simple identification du genre ou espèce pourrait ne pas être suffisamment précise pour les associer à un indice de qualité de l'écosystème, une analyse au niveau de l'écotypes serait alors nécessaire. Ainsi, le développement d'indices microbiens intégratifs représente une approche prometteuse afin d'obtenir une meilleure estimation de l'état de santé des écosystèmes, d'autant plus si le signal phylogénétique est couplé aux capacités fonctionnelles. Toutefois, la complexité des jeux de données, impose des efforts de simplification afin d'extraire la signification écologique la plus lisible possible (SMITH & MATHER, 2012), qui nécessite certainement la mise au point d'outils bio-informatiques adéquats permettant de traiter à la fois les profils phylogénétiques et fonctionnels. L'analyse microbienne fonctionnelle est aussi extrêmement dépendante des connaissances génétiques disponibles. Ainsi, la précision des analyses fonctionnelles nécessite des bases de données complètes et clairement organisées. Il semble donc pertinent de s'intéresser à des microorganismes spécifiques, comme *Nitrospira*, que nous avons identifié comme un partenaire aidant ou favorisant la colonisation du milieu, sa présence est associée à la présence de micropolluants. L'identification de tel partenaire pourrait nous permettre de mieux définir leur rôle dans l'installation éventuelle de cohorte résistante ou tolérante à une contamination. Ces partenaires pourraient aussi être identifiés et classifiés parmi les bioindicateurs potentiels d'une contamination. Toutefois, des études sont nécessaires pour identifier d'autres bioindicateurs microbiens et de tester leur pertinence dans des situations réalistes.

6.6 Perspectives

Les écosystèmes estuariens s'illustrent par leur grande complexité, sensibilité et surtout fragilité. Ce sont des écosystèmes remarquables fournissant de nombreux **services écosystémiques** à l'échelle mondiale (COSTANZA et al., 2014). La classification des estuaires englobe de nombreux environnements extrêmement hétérogènes, pouvant varier énormément en morphologie (longueur, largeur, profondeur), en hydrologie (intensité des forçages marins et dulcicole), etc. Une partie des conclusions apportées dans ce travail de thèse sont directement **dépendantes du modèle de l'estuaire de l'Adour**, un estuaire tempéré relativement étroit, présentant une très faible sédimentologie et pouvant afficher un débit amont extrêmement important.

Au regard de la variabilité des estuaires, il semble essentiel d'élargir l'échelle d'analyse des communautés microbiennes, du **régional au global**. Une étude biogéographique, a minima des estuaires tempérés, permettrait une meilleure compréhension de l'écologie des communautés microbiennes estuariennes ainsi que l'influence des différents paramètres structurants, incluant la morphologie même des estuaires. A cette dimension spatiale, s'ajoute aussi la difficulté d'échantillonnage temporel de tels écosystèmes. Les saisons sont pour l'estuaire de l'Adour extrêmement structurantes, néanmoins, nous n'avons pas été en mesure d'isoler les influences respectives de la température et du débit estuarien puisqu'ils varient pour notre échantillonnage simultanément. Une série temporelle sur plusieurs années permettrait d'estimer l'influence des variations saisonnières, offrant la possibilité d'obtenir des connaissances plus complètes sur les assemblages microbiens et leur fonctionnement dans les estuaires. Les outils modernes à notre disposition, tels que le séquençage à haut débit des métagénomés et les géostatistiques, pourraient permettre une lecture plus complète des différents facteurs influençant sur la structuration des communautés microbiennes et ainsi identifier plus la dynamique de ces écosystèmes clefs à l'échelle globale.

Bibliographie

- ABREU, C., JURGENS, G., DE MARCO, P., SAANO, A., & BORDALO, A. A. (2001). Crenarchaeota and euryarchaeota in temperate estuarine sediments. *Journal of Applied Microbiology*, 90(5), 713-718.
- ACQUAVITA, A., FLOREANI, F., & COVELLI, S. (2021). Occurrence and speciation of arsenic and mercury in alluvial and coastal sediments. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 22, 100272.
- ADELEYE, A. S., XUE, J., ZHAO, Y., TAYLOR, A. A., ZENOBIO, J. E., SUN, Y., HAN, Z., SALAWU, O. A., & ZHU, Y. (2022). Abundance, fate, and effects of pharmaceuticals and personal care products in aquatic environments. *Journal of Hazardous Materials*, 424(127284), 1-32.
- AGER, D., EVANS, S., LI, H., LILLEY, A. K., & van der GAST, C. J. (2010). Anthropogenic disturbance affects the structure of bacterial communities. *Environmental Microbiology*, 12(3), 670-678.
- AGUIRRE, M., ABAD, D., ALBAINA, A., CRALLE, L., GOÑI-URRIZA, M. S., ESTONBA, A., & ZARRAONAINDIA, I. (2017). Unraveling the environmental and anthropogenic drivers of bacterial community changes in the Estuary of Bilbao and its tributaries. *PLoS ONE*, 12(6), 1-23.
- AHEL, M., & GIGER, W. (1993a). Aqueous solubility of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates. *Chemosphere*, 26(8), 1461-1470.
- AHEL, M., & GIGER, W. (1993b). Partitioning of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates between water and organic solvents. *Chemosphere*, 26(8), 1471-1478.
- AHRENS, L., NORSTRÖM, K., VIKTOR, T., COUSINS, A. P., JOSEFSSON, S., NORSTRÖM, K., VIKTOR, T., COUSINS, A. P., & JOSEFSSON, S. (2015). Stockholm Arlanda Airport as a source of per- and polyfluoroalkyl substances to water, sediment and fish. *Chemosphere*, 129, 33-38.
- ALLAN, R. (1997). Introduction : Mining and metals in the environment. *Journal of Geochemical Exploration*, 58, 95-100.
- ALLISON, S. D., & MARTINY, J. B. H. (2008). Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(Supplement 1), 11512-11519.
- ALZIEU, C., HERAL, M., THIBAUD, Y., DARDIGNAC, M. J., & FEUILLET, M. (1981). Influence des peintures anti-salissures à base d'organostanniques sur la calcification de la coquille de l'huître *Crassostrea gigas*. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*, 45(2), 101-116.
- AMANN, R. I., LUDWIG, W., & SCHLEIFER, K. H. (1995). Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological reviews*, 59(1), 143-169.

- AMIGO, J. M., GREDILLA, A., FDEZ-ORTIZ DE VALLEJUELO, S., DE DIEGO, A., & MADARIAGA, J. M. (2012). Study of parameters affecting the behaviour of trace elements in a polluted estuary. Canonical correlation analysis as a tool in environmental impact assessment. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 119, 1-10.
- AMINOT, A., & KÉROUEL, R. (2004). *Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses*. (IFREMER, Éd.).
- AMINOT, Y. (2013). *Etude de l'impact des effluents urbains sur la qualité des eaux de la Garonne estuarienne : application aux composés pharmaceutiques et aux filtres UV*. (Thèse de doctorat, Spécialité : Chimie Analytique et Environnement). Université de Bordeaux.
- AMINOT, Y., LE MENACH, K., PARDON, P., ETCHEBER, H., & BUDZINSKI, H. (2016). Inputs and seasonal removal of pharmaceuticals in the estuarine Garonne River. *Marine Chemistry*, 185, 3-11.
- ANDERSSON, D. I., & HUGHES, D. (2014). Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics. *Nature Reviews Microbiology*, 12, 465-478.
- ANDERSSON, J. T., & ACHTEN, C. (2015). Time to Say Goodbye to the 16 EPA PAHs? Toward an Up-to-Date Use of PACs for Environmental Purposes. *Polycyclic aromatic compounds*, 35(2-4), 330-354.
- ANDERSSON, M., OTTESEN, R. T., & VOLDEN, T. (2004). Building materials as a source of PCB pollution in Bergen, Norway. *Science of The Total Environment*, 325(1-3), 139-144.
- ANSES. (2020). *Antibiorésistance et environnement État et causes possibles de la contamination des milieux en France par les antibiotiques, les bactéries résistantes aux antibiotiques et les supports génétiques de la résistance aux antibiotiques* (rapp. tech.). Saisine n° 2016-SA-0252.
- AO, L., ZENG, X.-C. Z., NIE, Y., MU, Y., ZHOU, L., & LUO, X. (2014). *Flavobacterium arsenatis* sp. nov., a novel arsenic-resistant bacterium from high-arsenic sediment. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64, 3369-3374.
- ARIKAN, O. A., RICE, C., & CODLING, E. (2008). Occurrence of antibiotics and hormones in a major agricultural watershed. *Desalination*, 226(1-3), 121-133.
- ASMALA, E., KAARTOKALLIO, H., CARSTENSEN, J., & THOMAS, D. N. (2016). Variation in riverine inputs affect dissolved organic matter characteristics throughout the estuarine gradient. *Frontiers in Marine Science*, 2, 125.
- AUGUET, J. C., BARBERAN, A., & CASAMAYOR, E. O. (2010). Global ecological patterns in uncultured Archaea. *ISME Journal*, 4, 182-190.
- AVOINE, J. (1986). Evaluation des apports fluviaux dans l'estuaire de la Seine.
- AYLAGAS, E., BORJA, Á., TANGHERLINI, M., DELL'ANNO, A., CORINALDESI, C., MICHELL, C. T., IRIGOIEN, X., DANOVARO, R., & RODRÍGUEZ-EZPELETA, N. (2017). A bacterial community-based index to assess the ecological status of estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, 114, 679-688.
- AZAM, F., FENCHEL, T., FIELD, J. G., GRAY, J. C., MEYER-REIL, L. A., & THINGSTAD, F. (1983). The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 10(3), 257-264.
- BACHMANN, J., HEIMBACH, T., HASSENRÜCK, C., KOPPRIO, G. A., IVERSEN, M. H., GROSSART, H. P., & GÄRDES, A. (2018). Environmental drivers of free-living vs. particle-attached bacterial community composition in the Mauritania upwelling system. *Frontiers in Microbiology*, 9(2836), 1-13.

- BAI, S., LI, J., HE, Z., VAN NOSTRAND, J. D., TIAN, Y., LIN, G., ZHOU, J., & ZHENG, T. (2012). GeoChip-based analysis of the functional gene diversity and metabolic potential of soil microbial communities of mangroves. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(15), 7035-7048.
- BAIZE, D. (1997). Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France). In *INRA Editions*.
- BAKER-AUSTIN, C., WRIGHT, M. S., STEPANAUSKAS, R., & MCARTHUR, J. V. (2006). Co-selection of antibiotic and metal resistance. *Trends in Microbiology*, 14(4), 176-182.
- BAREILLE, G., POINT, D., LAPRAIRIE, X., BUDZINSKI, H., LESPEDES, G., AMOUROUX, D., FIGURA, S., LE TRUT, G., CANTIN, C., GUEGUEN, C., & GUILLARD, F. (2001). *Etude de la qualité des eaux de l'estuaire de l'Adour. Rapport d'état d'avancement n°2* (rapp. tech.). LCABIE (IPREM). Pau.
- BASELGA, A. (2010). Partitioning the turnover and nestedness components of beta diversity. *Global Ecology and Biogeography*, 19(1), 134-143.
- BASSET, A., ELLIOTT, M., WEST, R. J., & WILSON, J. G. (2013). Estuarine and lagoon biodiversity and their natural goods and services. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.
- BASTIAN, M., HEYMAN, S., & JACOMY, M. (2009). Gephi : An open source software for exploring and manipulating networks.
- BAUER, J. E., CAI, W. J., RAYMOND, P. A., BIANCHI, T. S., HOPKINSON, C. S., & REGNIER, P. A. (2013). The changing carbon cycle of the coastal ocean. *Nature*, 504, 61-70.
- BAYER, K., MOITINHO-SILVA, L., BRÜMMER, F., CANNISTRACI, C. V., RAVASI, T., & HENTSCHEL, U. (2014). GeoChip-based insights into the microbial functional gene repertoire of marine sponges (high microbial abundance, low microbial abundance) and seawater. *FEMS microbiology ecology*, 90, 832-843.
- BAYNE, B. (1975). Aspects of physiological condition in *Mytilus edulis* L., with special reference to the effects of oxygen tension and salinity. In H. BARNES (Éd.), *Ninth European Marine Biology Symposium* (p. 213-238). Aberdeen University Press.
- BEN SALEM, F., BEN SAID, O., CRAVO-LAUREAU, C., MAHMOUDI, E., BRU, N., MONPERRUS, M., & DURAN, R. (2019). Bacterial community assemblages in sediments under high anthropogenic pressure at Ichkeul Lake/Bizerte Lagoon hydrological system, Tunisia. *Environmental Pollution*, 252, 644-656.
- BEN SALEM, F., BEN SAID, O., DURAN, R., & MONPERRUS, M. (2016). Validation of an Adapted QuEChERS Method for the Simultaneous Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Polychlorinated Biphenyls and Organochlorine Pesticides in Sediment by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 96(5), 678-684.
- BENDSCHNEIDER, K., & ROBINSON, R. J. (1952). A New Spectrophotometric Method for the Determination of Nitrite in Sea Water. *Journal of Marine Research*.
- BERNHARD, M., BRINCKMAN, F. E., & SADLER, P. J. (1986). *The Importance of Chemical "Speciation" in Environmental Processes*. Springer.
- BESTER, K. (2009). Analysis of musk fragrances in environmental samples. *Journal of Chromatography A*, 1216(3), 470-480.
- BILLINGTON, J. W., HUANG, G.-L. .-, SZETO, F., SHIU, W. Y., & MACKAY, D. (1988). Preparation of aqueous solutions of sparingly soluble organic substances : I. Single component systems. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 7(2), 117-124.

- BLAHNA, M. T., ZALEWSKI, C. A., REUER, J., KAHLMETER, G., FOXMAN, B., & MARRS, C. F. (2006). The role of horizontal gene transfer in the spread of trimethoprim-sulfamethoxazole resistance among uropathogenic *Escherichia coli* in Europe and Canada. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *57*(4), 666-672.
- BLANCO-ZUBIAGUIRRE, L., DELGADO, A., ROS, O., POSADA-URETA, O., VALLEJO, A., PRIETO, A., OLIVARES, M., & ETXEBARRIA, N. (2014). Assessment of commercially available polymeric materials for sorptive microextraction of priority and emerging nonpolar organic pollutants in environmental water samples. *Environmental Science and Pollution Research*, *21*(20), 11867-11883.
- BOMBLED, B., & COSSA, D. (1992). Etude pilote des apports en contaminants par la Seine : niveaux de contamination, variations saisonnières et flux d'éléments traces a poses en 1990 et 1991.
- BORDENAVE, S., FOURÇANS, A., BLANCHARD, S., GOÑI, M. S., CAUMETTE, P., & DURAN, R. (2004). Structure and functional analyses of bacterial communities changes in microbial mats following petroleum exposure. *Ophelia*, *58*(3), 195-203.
- BORJA, J., TALEON, D. M., AURESENIA, J., & GALLARDO, S. (2005). Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. *Process Biochemistry*, *40*(6), 1999-2013.
- BORREGO, C., SABATER, S., & PROIA, L. (2020). Lifestyle preferences drive the structure and diversity of bacterial and archaeal communities in a small riverine reservoir. *Scientific reports*, *10*(11288).
- BOTTERY, M. J., PITCHFORD, J. W., & FRIMAN, V. P. (2020). Ecology and evolution of antimicrobial resistance in bacterial communities. *The ISME Journal*, *15*(4), 939-948.
- BOUTIER, B., QUINTIN, J.-Y., ROZUEL, E., DOMINIQUE, A., & BRETAUDEAU-SANJUAN, J. (2011). Retrospective study of metal contamination time trends in the French part of the Bay of Biscay. *Environmental Technology*, *32*(15), 1807-1815.
- BOUVIER, T. C., & DEL GIORGIO, P. A. (2002). Compositional changes in free-living bacterial communities along a salinity gradient in two temperate estuaries. *Limnology and Oceanography*, *160*, 307-314.
- BRADL, H. B. (2005). Sources and Origins of Heavy Metals. In *Heavy Metals in the Environment : Origin, Interaction and Remediation. Volume 6* (p. 1-27). Elsevier.
- BRANCHET, P., ARPIN-PONT, L., PIRAM, A., BOISSERY, P., WONG-WAH-CHUNG, P., & DOUMENQ, P. (2021). Pharmaceuticals in the marine environment : What are the present challenges in their monitoring? *Science of The Total Environment*, *766*, 142644.
- BRANDT, M. I., TROUCHE, B., QUINTRIC, L., WINCKER, P., POULAIN, J., & ARNAUD-HAOND, S. (2019). A flexible pipeline combining clustering and correction tools for prokaryotic and eukaryotic metabarcoding.
- BRAUSCH, J. M., CONNORS, K. A., BROOKS, B. W., & RAND, G. M. (2012). Human pharmaceuticals in the aquatic environment : A review of recent toxicological studies and considerations for toxicity testing. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, *218*, 1-99.
- BRAY, J. R., & CURTIS, J. T. (1957). An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin. *Ecological Monographs*, *27*(4), 325-349.
- BREDA, I. L., RAMSAY, L., & ROSLEV, P. (2017). Manganese oxidation and bacterial diversity on different filter media coatings during the start-up of drinking water biofilters. *Journal of Water Supply : Research and Technology - AQUA*, *66*(8), 641-650.

- BROCHIER-ARMANET, C., BOUSSAU, B., GRIBALDO, S., & FORTERRE, P. (2008). Mesophilic crenarchaeota : Proposal for a third archaeal phylum, the Thaumarchaeota. *Nature Reviews Microbiology*, 6(3), 245-252.
- BROSIUS, J., PALMER, M. L., KENNEDY, P. J., & NOLLER, H. F. (1978). Complete nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA gene from *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 75(10), 4801-4805.
- BRUNEEL, O., PASCAULT, N., EGAL, M., BANCON-MONTIGNY, C., GOÑI-URRIZA, M. S., ELBAZ-POULICHET, F., PERSONNÉ, J. C., & DURAN, R. (2008). Archaeal diversity in a Fe-As rich acid mine drainage at Carnoulès (France). *Extremophiles*, 12(4), 563-571.
- BRUNET, R. C., & ASTIN, K. B. (1999). Spatio-temporal variation in some physical and chemical parameters over a 25-year period in the catchment of the river Adour. *Journal of Hydrology*, 220(3-4), 209-221.
- BUDZINSKI, H., JONES, I., BELLOCQ, J., PIÉRARD, C., & GARRIGUES, P. (1997). Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Marine Chemistry*, 58(1-2), 85-97.
- BUDZINSKI, H. (2008). *Etude de la contamination des estuaires de la Seine, de la Gironde et de l'Adour par les substances pharmaceutiques : Présence, Devenir et Impact Toxicologique* (rapp. tech.). ISM.
- BULSKA, E., & WAGNER, B. (2016). Quantitative aspects of inductively coupled plasma mass spectrometry. *Philosophical Transactions of the Royal Society A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 374(2079).
- BULTEL, E., LASNE, E., ACOU, A., GUILLAUDEAU, J., BERTIER, C., & FEUNTEUN, E. (2014). Migration behaviour of silver eels (*Anguilla anguilla*) in a large estuary of Western Europe inferred from acoustic telemetry. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 137, 23-31.
- BUZIER, R., TUSSEAU-VUILLEMIN, M. H., dit MERIADEC, C. M., ROUSSELOT, O., & MOUCHEL, J. M. (2006). Trace metal speciation and fluxes within a major French wastewater treatment plant : Impact of the successive treatments stages. *Chemosphere*, 65(11), 2419-2426.
- CABRAL, H. N., VASCONCELOS, R., VINAGRE, C., FRANÇA, S., FONSECA, V., MAIA, A., REIS-SANTOS, P., LOPES, M., RUANO, M., CAMPOS, J., FREITAS, V., SANTOS, P. T., & COSTA, M. J. (2007). Relative importance of estuarine flatfish nurseries along the Portuguese coast. *Journal of Sea Research*, 57(2-3), 209-217.
- CALLAHAN, B. J., MCMURDIE, P. J., ROSEN, M. J., HAN, A. W., JOHNSON, A. J. A., & HOLMES, S. P. (2016a). DADA2 : High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581-583.
- CALLAHAN, B. J., SANKARAN, K., FUKUYAMA, J. A., MCMURDIE, P. J., & HOLMES, S. P. (2016b). Bioconductor Workflow for Microbiome Data Analysis : from raw reads to community analyses [Version 2]. *F1000Research*, 5(1492), 1-48.
- CAPDEVILLE, M.-J. (2011). *Études des cycles biogéochimiques des contaminants organiques dits « émergents » dans les systèmes aquatiques* (thèse de doct.). Université de Bordeaux 1. Bordeaux 1.
- CAREY, R. O., MIGLIACCIO, K. W., RO, C., & KW, M. (2009). Contribution of Wastewater Treatment Plant Effluents to Nutrient Dynamics in Aquatic Systems : A Review. *Environmental Management 2009 44 :2*, 44(2), 205-217.
- CARMICHAEL, M. J., CARMICHAEL, S. K., SANTELLI, C. M., STROM, A., & BRÄUER, S. L. (2013). Mn(II)-oxidizing Bacteria are Abundant and Environmentally Relevant Members of Ferromanganese Deposits in Caves of the Upper Tennessee River Basin. *Geomicrobiology Journal*, 30(9), 779-800.

- CARUSO, G., LA FERLA, R., AZZARO, M., ZOPPINI, A., MARINO, G., PETOCHI, T., CORINALDESI, C., LEONARDI, M., ZACCONE, R., FONDA, S., CAROPPO, C., MONTICELLI, L., AZZARO, F., DECEMBRINI, F., MAIMONE, G., CAVALLO, R., STABILI, L., TODOROVA, N., KARAMFILOV, V., ... R, D. D. A. (2016). Microbial assemblages for environmental quality assessment : Knowledge, gaps and usefulness in the European marine strategy framework directive. *Critical Reviews in Microbiology*, 42(6), 883-904.
- CAVALHEIRO, J., MONPERRUS, M., AMOUROUX, D., PREUD'HOMME, H., PRIETO, A., & ZULOAGA, O. (2014). In-port derivatization coupled to different extraction techniques for the determination of alkylphenols in environmental water samples. *Journal of Chromatography A*, 1340, 1-7.
- CAVALHEIRO, J., PRIETO, A., MONPERRUS, M., ETXEBARRIA, N., & ZULOAGA, O. (2013). Determination of polycyclic and nitro musks in environmental water samples by means of microextraction by packed sorbents coupled to large volume injection-gas chromatography-mass spectrometry analysis. *Analytica Chimica Acta*, 773, 68-75.
- CAVALHEIRO, J., ZULOAGA, O., PRIETO, A., PREUDHOMME, H., AMOUROUX, D., & MONPERRUS, M. (2017). Occurrence and Fate of Organic and Organometallic Pollutants in Municipal Wastewater Treatment Plants and Their Impact on Receiving Waters (Adour Estuary, France). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 73(4), 619-630.
- CAVALHEIRO, J., PRIETO, A., ZULOAGA, O., PREUDHOMME, H., AMOUROUX, D., & MONPERRUS, M. (2015). Evaluation of preconcentration methods in the analysis of synthetic musks in whole-water samples. *Journal of separation science*, 38(13), 2298-2304.
- CAVALHEIRO, J. (2004). *Developpement de techniques de séparation et détection pour l'analyse des polluants organiques et organométalliques dans les échantillons environnementaux* (Spécialité : Chimie Analytique et Environnement). Université de Pau et des Pays de l'Adour et Université du Pays Basque (Euskal Herriko Unibertsitatea).
- CAYROU, C., RAOULT, D., & DRANCOURT, M. (2010). Broad-spectrum antibiotic resistance of Planctomycetes organisms determined by Etest. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(10), 2119-2122.
- CHAFEE, M., FERNÁNDEZ-GUERRA, A., BUTTIGIEG, P. L., GERDTS, G., EREN, A. M., TEELING, H., & AMANN, R. I. (2018). Recurrent patterns of microdiversity in a temperate coastal marine environment. *ISME Journal*, 12(1).
- CHAO, A. (1984). Non-parametric estimation of the classes in a population. *Scandinavian Journal of Statistics*, 11(4), 265-270.
- CHASE, D. A., KARNJANAPIBOONWONG, A., FANG, Y., COBB, G. P., MORSE, A. N., & ANDERSON, T. A. (2012). Occurrence of synthetic musk fragrances in effluent and non-effluent impacted environments. *Science of the Total Environment*, 416, 253-260.
- CHAUDHARY, D. K., KIM, D.-U., KIM, D., & KIM, J. (2019). *Flavobacterium petrolei* sp. nov., a novel psychrophilic, diesel-degrading bacterium isolated from oil-contaminated Arctic soil. *Scientific Reports*, 9(4134), 1-9.
- CHEN, C., LI, L., HUANG, K., ZHANG, J., XIE, W. Y., LU, Y., DONG, X., & ZHAO, F. J. (2019). Sulfate-reducing bacteria and methanogens are involved in arsenic methylation and demethylation in paddy soils. *ISME Journal*, 13(10), 2523-2535.

- CHEN, H., & BOUTROS, P. C. (2011). VennDiagram : A package for the generation of highly-customizable Venn and Euler diagrams in R. *BMC Bioinformatics*, 12(35).
- CHEN, W. M., SHEU, F. S., YOUNG, C. C., & SHEU, S. Y. (2012). *Inhella fonticola* sp. nov., isolated from spring water, and emended description of the genus *Inhella*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(5), 1048-1054.
- CHÈVRE, N., & ERKMAN, S. (2017). *Alerte aux micropolluants, un péril invisible* (2e édition). Presses polytechniques et universitaires romandes.
- CHEVREUIL, M., BLANCHARD, M., TEIL, M. J., & CHESTERIKOFF, A. (1998). Polychlorobiphenyl behaviour in the water/sediment system of the Seine river, France. *Water Research*, 32(4), 1204-1212.
- CHEVREUIL, M., CHESTERIKOFF, A., & LÉTOLLE, R. (1987). PCB pollution behaviour in the River Seine. *Water Research*, 21(4), 427-434.
- CHIAVARINI, S., MASSANISSO, P., NICOLAI, P., NOBILI, C., & MORABITO, R. (2003). Butyltins concentration levels and imposex occurrence in snails from the Sicilian coasts (Italy). *Chemosphere*, 50(3), 311-319.
- CLAUSET, A., NEWMAN, M. E., & MOORE, C. (2004). Finding community structure in very large networks. *Physical Review E - Statistical Physics, Plasmas, Fluids, and Related Interdisciplinary Topics*, 70(6 Pt 2), 066111.
- CLINE, J. D. (1969). Spectrophotometric determination of hydrogen sulfide in natural waters. *Limnology and Oceanography*, 14(3), 454-458.
- COBLE, P. G. (1996). Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry*, 51(4), 325-346.
- COLIN, Y., GOÑI-URRIZA, M., GASSIE, C., CARLIER, E., MONPERRUS, M., GUYONEAUD, R., GOÑI-URRIZA, M., GASSIE, C., CARLIER, E., MONPERRUS, M., & GUYONEAUD, R. (2017). Distribution of Sulfate-Reducing Communities from Estuarine to Marine Bay Waters. *Microbial ecology*, 73(1), 39-49.
- CONCHA, C., MIRANDA, C. D., ROJAS, R., GODOY, F. A., & ROMERO, J. (2021). Characterization of a novel variant of the quinolone-resistance gene *qnrB* (*qnrB89*) carried by a multi-drug resistant *Citrobacter gillenii* strain isolated from farmed salmon in Chile. *Antibiotics*, 10(3), 1-12.
- COOPER, R. E., WEGNER, C.-E., KÜGLER, S., POULIN, R. X., UEBERSCHAAR, N., WURLITZER, J. D., STETTIN, D., WICHARD, T., POHNERT, G., & KÜSEL, K. (2020). Iron is not everything : unexpected complex metabolic responses between iron-cycling microorganisms. *The ISME Journal 2020 14 :11, 14*, 2675-2690.
- COSSA, D., THIBAUD, Y., ROMÉO, M., & GNASSIA-BARELLI, M. (1990). *Le mercure en milieu marin. Biogéochimie et Ecotoxicologie, IFREMER* (rapp. tech.).
- COSTA, F., HAGAN, J. E., CALCAGNO, J., KANE, M., TORGERSON, P., MARTINEZ-SILVEIRA, M. S., STEIN, C., ABELARIDDER, B., & KO, A. I. (2015). Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis : A Systematic Review. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 9(9), e0003898.
- COSTANZA, R., ARGE, R., GROOT, R. D., FARBER, S., GRASSO, M., HANNON, B., LIMBURG, K., NAEEM, S., NEILL, R. V. O., PARUELO, J., RASKIN, R. G., & SUTTON, P. (1997). The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387(May), 253-260.
- COSTANZA, R., de GROOT, R., SUTTON, P., van der PLOEG, S., ANDERSON, S. J., KUBISZEWSKI, I., FARBER, S., & TURNER, R. K. (2014). Changes in the global value of ecosystem services. *Global Environmental Change*, 26, 152-158.

- COSTLEY, C. T., MOSSOP, K. F., DEAN, J. R., GARDEN, L. M., MARSHALL, J., & CARROLL, J. (2000). Determination of mercury in environmental and biological samples using pyrolysis atomic absorption spectrometry with gold amalgamation. *Analytica Chimica Acta*, 405(1-2), 179-183.
- COTTRELL, M. T., & KIRCHMAN, D. L. (2000). Natural assemblages of marine proteobacteria and members of the Cytophaga-flavobacter cluster consuming low- and high-molecular-weight dissolved organic matter. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(4), 1692-1697.
- CRAVO-LAUREAU, C., HERNANDEZ-RAQUET, G., VITTE, I., JÉZÉQUEL, R., BELLET, V., GODON, J. J., CAUMETTE, P., BALAGUER, P., & DURAN, R. (2011). Role of environmental fluctuations and microbial diversity in degradation of hydrocarbons in contaminated sludge. *Research in Microbiology*, 162(9), 888-895.
- CROGNALE, S., CASENTINI, B., AMALFITANO, S., FAZI, S., PETRUCCIOLI, M., & ROSSETTI, S. (2019). Biological As(III) oxidation in biofilters by using native groundwater microorganisms. *Science of the Total Environment*, 651, 93-102.
- CRUMP, B. C., ARMBRUST, E. V., & BAROSS, J. A. (1999). Phylogenetic analysis of particle-attached and free-living bacterial communities in the Columbia river, its estuary, and the adjacent coastal ocean. *Applied and environmental microbiology*, 65(7), 3192-3204.
- CRUMP, B. C., BAROSS, J. A., & SIMENSTAD, C. A. (1998). Dominance of particle-attached bacteria in the Columbia River estuary, USA. *Aquatic Microbial Ecology*, 14(1), 7-18.
- CRUMP, B. C., HOPKINSON, C. S., SOGIN, M. L., & HOBBIÉ, J. E. (2004). Microbial Biogeography along an Estuarine Salinity Gradient : Combined Influences of Bacterial Growth and Residence Time. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(3), 1494-1505.
- CUNHA, S. C., TRABALÓN, L., JACOBS, S., CASTRO, M., FERNANDEZ-TEJEDOR, M., GRANBY, K., VERBEKE, W., KWADIJK, C., FERRARI, F., ROBBENS, J., SIOEN, I., POCURULL, E., MARQUES, A., FERNANDES, J. O., & DOMINGO, J. L. (2018). UV-filters and musk fragrances in seafood commercialized in Europe Union : Occurrence, risk and exposure assessment. *Environmental Research*, 161, 399-408.
- DAL POZZO, A., DONZELLI, G., RODRIQUEZ, L., & TAJANA, A. (1989). "In vitro" model for the evaluation of drug distribution and plasma protein-binding relationships. *International Journal of Pharmaceutics*, 50, 97-101.
- DAMASHEK, J., & FRANCIS, C. A. (2018). Microbial Nitrogen Cycling in Estuaries : From Genes to Ecosystem Processes. *Estuaries and Coasts*, 41, 626-660.
- D'AMBROSIO, L., ZIERVOGEL, K., MACGREGOR, B., TESKE, A., & ARNOSTI, C. (2014). Composition and enzymatic function of particle-associated and free-living bacteria : A coastal/offshore comparison. *ISME Journal*, 8, 2167-2179.
- DAUVIN, J. C. (2007). Paradox of estuarine quality : benthic indicators and indices, consensus or debate for the future. *Marine pollution bulletin*, 55, 271-281.
- DAUVIN, J. C., & RUELLET, T. (2009). The estuarine quality paradox : Is it possible to define an ecological quality status for specific modified and naturally stressed estuarine ecosystems? *Marine Pollution Bulletin*, 59(1-3), 38-47.
- DAVIES, J. L., & MOSES, C. A. (1964). *A Morphogenic Approach to World Shorelines*.
- DAVIS, J. A., HETZEL, F., ORAM, J. J., & MCKEE, L. J. (2007). Polychlorinated biphenyls (PCBs) in San Francisco Bay. *Environmental Research*, 105, 67-86.

- DÉ, I., ROLSTON, K. V., & HAN, X. Y. (2004). Clinical significance of Roseomonas species isolated from catheter and blood samples : Analysis of 36 cases in patients with cancer. *Clinical Infectious Diseases*, 38(11), 1579-1584.
- DE BRUIJN, J., BUSSE, F., SEINEN, W., & HERMENS, J. (1989). Determination of octanol/water partition coefficients for hydrophobic organic chemicals with the "slow-stirring" method. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8(6), 499-512.
- DE CARIO, R., KURA, A., SURACI, S., MAGI, A., VOLTA, A., MARCUCCI, R., GORI, A. M., PEPE, G., GIUSTI, B., & STICCHI, E. (2020). Sanger Validation of High-Throughput Sequencing in Genetic Diagnosis : Still the Best Practice? *Frontiers in Genetics*, 11, 592588.
- DE MAAGD, P. G.-J., TEN HULSCHER, D. T. E., VAN DEN HEUVEL, H., OPPERHUIZEN, A., & SIJM, D. T. (1998). Physicochemical properties of polycyclic aromatic hydrocarbons : Aqueous solubilities, n-octanol/water partition coefficients, and Henry's law constants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(2), 251-257.
- DE PAIVA MAGALHÃES, D., DA COSTA MARQUES, M. R., BAPTISTA, D. F., & BUSS, D. F. (2015). Metal bioavailability and toxicity in freshwaters. *Environmental Chemistry Letters*, 13, 69-87.
- DEFONTAINE, S. (2019). *Saline structure, circulation and suspended sediment transport in a channelized salt-wedge estuary : the Adour river estuary* (thèse de doct.). Université de Pau et des Pays de l'Adour.
- DEFONTAINE, S., SOUS, D., MORICHON, D., VERNEY, R., & MONPERRUS, M. (2019). Hydrodynamics and SPM transport in an engineered tidal estuary : the Adour river (France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 231, 106445.
- DEHNING, I., & SCHINK, B. (1989). Malonomonas rubra gen. nov. sp. nov., a microaerotolerant anaerobic bacterium growing by decarboxylation of malonate. *Archives of Microbiology*, 151(5), 427-433.
- DELONG, E. F. (1992). Archaea in coastal marine environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(12), 5685-5689.
- DELORENZO, M. E., SCOTT, G. I., & ROSS, P. E. (2001). Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms : A review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(1), 84-98.
- DENG, Y., JIANG, Y. H., YANG, Y., HE, Z., LUO, F., & ZHOU, J. (2012). Molecular ecological network analyses. *BMC Bioinformatics*, 13(113).
- DEYCARD, V. (2015). *Etude de la réactivité et l'efficacité de rétention des éléments traces métalliques dans les stations d'épuration de Bordeaux et leurs apports métalliques dans les eaux de la section Garonnaise de l'estuaire de la Gironde* (Spécialité : Géochimie et écotoxicologie). Université de Bordeaux.
- DIARRA, I., & PRASAD, S. (2021). The current state of heavy metal pollution in Pacific Island Countries : a review.
- DIAS, M., SALVADO, J. C., MONPERRUS, M., CAUMETTE, P., AMOUROUX, D., DURAN, R., & GUYONEAUD, R. (2008). Characterization of Desulfomicrobium salsuginis sp. nov. and Desulfomicrobium aestuarii sp. nov., two new sulfate-reducing bacteria isolated from the Adour estuary (French Atlantic coast) with specific mercury methylation potentials. *Systematic and Applied Microbiology*, 31(1), 30-37.
- DIONNE, J. (1963). Towards a more adequate definition of the St. Lawrence estuary. *Zeitschrift für Geomorphologie*, 7(1), 36-44.

- DODDS, J. N., ALEXANDER, N. L. M., KIRKWOOD, K. I., FOSTER, M. R., HOPKINS, Z. R., KNAPPE, D. R., & BAKER, E. S. (2021). From Pesticides to Per- and Polyfluoroalkyl Substances : An Evaluation of Recent Targeted and Untargeted Mass Spectrometry Methods for Xenobiotics. *Analytical chemistry*, 93(1), 641.
- DRAY, S., & DUFOUR, A. B. (2007). The ade4 package : Implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of Statistical Software*, 22(4), 1-20.
- DUNNIVANT, F. M., & ELZERMAN, A. W. (1988). Aqueous solubility and Henry's law constant data for PCB congeners for evaluation of quantitative structure-property relationships (QSPRs). *Chemosphere*, 17(3), 525-541.
- DURAN, R., RANCHOU-PEYRUSE, M., MENUET, V., MONPERRUS, M., BAREILLE, G., GOÑI, M. S., SALVADO, J. C., AMOUREUX, D., GUYONEAUD, R., DONARD, O. F. X., & CAUMETTE, P. (2008). Mercury methylation by a microbial community from sediments of the Adour Estuary (Bay of Biscay, France). *Environmental Pollution*, 156(3), 951-958.
- DURAN, R., BIELEN, A., PARADŽIK, T., GASSIE, C., PUSTIJANAC, E., CAGNON, C., HAMER, B., & VUJAKLIJA, D. (2015). Exploring Actinobacteria assemblages in coastal marine sediments under contrasted Human influences in the West Istria Sea, Croatia. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(20), 15215-15229.
- ECHA. (2016). *Member state committee support document for identification of 1,7,7-trimethyl-3-(phenylmethylene)-bicyclo[2.2.1]heptan-2-one(3-benzylidene camphor)* (rapp. tech.). European Chemicals Agency.
- ECKBURG, P. B., BIK, E. M., BERNSTEIN, C. N., PURDOM, E., DETHLEFSEN, L., SARGENT, M., GILL, S. R., NELSON, K. E., & RELMAN, D. A. (2005). Microbiology : Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, 308(5728), 1635-1638.
- EDUARDO-CORREIA, B., MORALES-FILLOY, H., & ABAD, J. P. (2020). Bacteria From the Multi-Contaminated Tinto River Estuary (SW, Spain) Show High Multi-Resistance to Antibiotics and Point to Paenibacillus spp. as Antibiotic-Resistance-Dissemination Players. *Frontiers in Microbiology*, 10, 3071.
- EGGLESTON, D. B., MILLSTEIN, E., & PLAIA, G. (2015). Timing and route of migration of mature female blue crabs in a tidal estuary. *Biology Letters*, 11(5), 20140936.
- ELLIOTT, M., & MCLUSKY, D. S. (2002). The need for definitions in understanding estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 55(6), 815-827.
- ELLIOTT, M., & QUINTINO, V. (2007). The Estuarine Quality Paradox, Environmental Homeostasis and the difficulty of detecting anthropogenic stress in naturally stressed areas. *Marine Pollution Bulletin*, 54(6), 640-645.
- ELOE-FADROSH, E. A., IVANOVA, N. N., WOYKE, T., & KYRPIDES, N. C. (2016). Metagenomics uncovers gaps in amplicon-based detection of microbial diversity. *Nature microbiology*, 1(15032).
- ELSER, J. J. (2012). Phosphorus : a limiting nutrient for humanity ? *Current opinion in biotechnology*, 23(6), 833-838.
- ERGUDER, T. H., BOON, N., WITTEBOLLE, L., MARZORATI, M., & VERSTRAETE, W. (2009). Environmental factors shaping the ecological niches of ammonia-oxidizing archaea. *FEMS Microbiology Reviews*, 33(5), 855-869.
- ESTRELA, S., & BROWN, S. P. (2018). Community interactions and spatial structure shape selection on antibiotic resistant lineages. *PLOS Computational Biology*, 14(6), e1006179.
- FABBRI, E., & FRANZELLITTI, S. (2016). Human pharmaceuticals in the marine environment : Focus on exposure and biological effects in animal species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35(4), 799-812.

- FAURÉ, S. (2018). *ACTION 1 - Bilan des connaissances sur l'état de la qualité chimique et biologique des eaux littorales sur la zone d'étude Micropolit. Partie A - Descriptif des sites ateliers.* (rapp. tech.). IPREM.
- FENCHEL, T. (2008). The microbial loop - 25 years later. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 366, 99-103.
- FENG, B. W., LI, X. R., WANG, J. H., HU, Z. Y., MENG, H., XIANG, L. Y., & QUAN, Z. X. (2009). Bacterial diversity of water and sediment in the Changjiang estuary and coastal area of the East China Sea. *FEMS Microbiology Ecology*, 70(2), 236-248.
- FERNANDES, M. B., SICRE, M. A., BOIREAU, A., & TRONCZYNSKI, J. (1997). Polyaromatic hydrocarbon (PAH) distributions in the Seine River and its estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 34(11), 857-867.
- FERNÁNDEZ-GÓMEZ, B., RICHTER, M., SCHÜLER, M., PINHASSI, J., ACINAS, S. G., GONZÁLEZ, J. M., & PEDRÓS-ALIÓ, C. (2013). Ecology of marine bacteroidetes : A comparative genomics approach. *ISME Journal*, 7, 1026-1037.
- FERRARI, B., PAXÉUS, N., GIUDICE, R. L., POLLIO, A., & GARRIC, J. (2003). Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters : study of carbamazepine, clofibrac acid, and diclofenac. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55, 359-370.
- FERREIRA, M., BLANCO, L., GARRIDO, A., VIEITES, J. M., & CABADO, A. G. (2013). In Vitro Approaches To Evaluate Toxicity Induced by Organotin Compounds Tributyltin (TBT), Dibutyltin (DBT), and Monobutyltin (MBT) in Neuroblastoma Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(17), 4195-4203.
- FIGUEIREDO, A. R., & KÜMMERLI, R. (2020). Microbial Mutualism : Will You Still Need Me, Will You Still Feed Me? *Current Biology*, 30, 1041-1043.
- FINI, A., LAUS, M., ORIENTI, I., & ZECCHI, V. (1986). Dissolution and partition thermodynamic functions of some nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 75(1), 23-25.
- FLEEGER, J. W., CARMAN, K. R., & NISBET, R. M. (2003). Indirect effects of contaminants in aquatic ecosystems. *Science of the Total Environment*, 317(1-3), 207-233.
- FONSELIUS, S. (1983). Determination of hydrogen sulfide. In VERLAG CHEMIE (Éd.), *Methodes of seawater analysis* (Grasshoff, p. 73-80).
- FONTANEZ, K. M., EPPLEY, J. M., SAMO, T. J., KARL, D. M., & DELONG, E. F. (2015). Microbial community structure and function on sinking particles in the North Pacific Subtropical Gyre. *6*(May), 1-14.
- FORBES, V. E., & CALOW, P. (1997). Responses of aquatic organisms to pollutant stress : Theoretical and practical implications. In *Environmental Stress, Adaptation and Evolution* (p. 25-41).
- FORTUNATO, C. S., & CRUMP, B. C. (2015). Microbial gene abundance and expression patterns across a river to ocean salinity gradient. *PLoS ONE*, 10(11), 1-22.
- FORTUNATO, C. S., EILER, A., HERFORT, L., NEEDOBA, J. A., PETERSON, T. D., & CRUMP, B. C. (2013). Determining indicator taxa across spatial and seasonal gradients in the Columbia River coastal margin. *ISME Journal*, 7, 1899-1911.
- FOWLER, D., COYLE, M., SKIBA, U., SUTTON, M. A., CAPE, J. N., REIS, S., SHEPPARD, L. J., JENKINS, A., GRIZZETTI, B., GALLOWAY, J. N., VITOUSEK, P., LEACH, A., BOUWMAN, A. F., BUTTERBACH-BAHL, K., DENTENER, F., STEVENSON, D., AMANN, M., & VOSS, M. (2013). The global nitrogen cycle in the

- twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences*, 368(1621), 20130164.
- FU, C., DENG, S., JIN, G., WANG, X., & YU, Z. G. (2017). Bayesian network model for identification of pathways by integrating protein interaction with genetic interaction data. *BMC Systems Biology*, 11(81), 35-42.
- FUCHSMAN, C. A., KIRKPATRICK, J. B., BRAZELTON, W. J., MURRAY, J. W., & STALEY, J. T. (2011). Metabolic strategies of free-living and aggregate-associated bacterial communities inferred from biologic and chemical profiles in the Black Sea suboxic zone. *FEMS Microbiology Ecology*, 78(3), 586-603.
- FUHRMAN, J. A. (2009). Microbial community structure and its functional implications. *Nature*, 459, 193-199.
- FUHRMAN, J. A., & MCCALLUM, K. (1992). Novel major archaeobacterial group from marine plankton. *Nature*, 356(6365), 148-149.
- FUHRMAN, J. A., & STEELE, J. A. (2008). Community structure of marine bacterioplankton : Patterns, networks, and relationships to function. *Aquatic Microbial Ecology*, 53(1), 69-81.
- GAGO-FERRERO, P., DÍAZ-CRUZ, M. S., & BARCELÓ, D. (2015). UV filters bioaccumulation in fish from Iberian river basins. *The Science of the total environment*, 518-525.
- GAVRILESCU, M., DEMNEROVÁ, K., AAMAND, J., AGATHOS, S., & FAVA, F. (2015). Emerging pollutants in the environment : Present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *New Biotechnology*, 32(1), 147-156.
- GAW, S., THOMAS, K. V., & HUTCHINSON, T. H. (2014). Sources, impacts and trends of pharmaceuticals in the marine and coastal environment. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 369(1656).
- GERASIMENKO, L. M., ORLEANSKII, V. K., & ZAITSEVA, L. V. (2013). Accumulation and precipitation of Mn²⁺ by the cells of *Oscillatoria terebriformis*. *Microbiology*, 82(5), 609-617.
- GHAI, R., MIZUNO, C. M., PICAZO, A., CAMACHO, A., RODRIGUEZ-VALERA, F., MEGUMI MIZUNO, C., PICAZO, A., CAMACHO, A., & RODRIGUEZ-VALERA, F. (2013). Metagenomics uncovers a new group of low GC and ultra-small marine Actinobacteria. *Scientific reports*, 3(2471), 1-8.
- GIBBS, R. J. (1977). Transport phases of transition metals in the Amazon and Yukon Rivers. *Bulletin of the Geological Society of America*, 88(6), 829-843.
- GILOTEAUX, L., DURAN, R., CASIOT, C., BRUNEEL, O., ELBAZ-POULICHET, F., & GOÑI-URRIZA, M. (2013). Three-year survey of sulfate-reducing bacteria community structure in Carnoulès acid mine drainage (France), highly contaminated by arsenic. *FEMS Microbiology Ecology*, 83(3), 724-737.
- GODINHO, O., CALISTO, R., ØVREÅS, L., QUINTEIRA, S., & LAGE, O. M. (2019). Antibiotic susceptibility of marine Planctomycetes. *Antonie van Leeuwenhoek*, 112(8), 1273-1280.
- GONÇALVES BENDIA, A., CEZAR FORNAZIER MOREIRA, J., CORREA NEIVA FERREIRA, J., GAMBA ROMANO, R., GONÇALVES DE CASTRO FERREIRA, I., CASTILLO FRANCO, D., CARMELA MONTONE, R., & HELENA PELLIZARI, V. (2021). Diversity of free-living prokaryotes on terrestrial and marine Antarctic habitats. *bioRxiv*.
- GOÑI-URRIZA, M. S., POINT, D., AMOUROUX, D., GUYONEAUD, R., DONARD, O. F. X., CAUMETTE, P., & DURAN, R. (2007). Bacterial community structure along the Adour estuary (French Atlantic coast) : Influence of salinity gradient versus metal contamination. *Aquatic Microbial Ecology*, 49(1), 47-56.

- GOURIOU, L., TRUT, G., AUBY, I., RIGOUIN, L., MÉTEIGNER, C., & OGER-JEANNERET, H. (2018). *Valorisation des données de la surveillance chimique DCE dans les masses d'eau du bassin Adour- Garonne (2008- 2015)* (rapp. tech.). IFREMER. Nantes.
- GRACELI, J. B., SENA, G. C., LOPES, P. F. I., ZAMPROGNO, G. C., da COSTA, M. B., GODOI, A. F. L., dos SANTOS, D. M., de MARCHI, M. R. R., & DOS SANTOS FERNANDEZ, M. A. (2013). Organotins : a review of their reproductive toxicity, biochemistry, and environmental fate. *Reproductive toxicology*, *36*, 40-52.
- GRAF, J. (2014). The Family Rikenellaceae. In *The Prokaryotes : Other Major Lineages of Bacteria and The Archaea* (p. 857-859). Springer, Berlin, Heidelberg.
- GRAHAM, E. B., KNELMAN, J. E., SCHINDLBACHER, A., SICILIANO, S., BREULMANN, M., YANNARELL, A., BEMAN, J. M., ABELL, G., PHILIPPOT, L., PROSSER, J., FOULQUIER, A., YUSTE, J. C., GLANVILLE, H. C., JONES, D. L., ANGEL, R., SALMINEN, J., NEWTON, R. J., BÜRGMANN, H., INGRAM, L. J., ... NEMERGUT, D. R. (2016). Microbes as engines of ecosystem function : When does community structure enhance predictions of ecosystem processes? *Frontiers in Microbiology*, *7*(214).
- GRICE, E. A., & SEGRE, J. A. (2011). The skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, *9*(4), 244-253.
- GROS, M., BLUM, K. M., JERNSTEDT, H., RENMAN, G., RODRÍGUEZ-MOZAZ, S., HAGLUND, P., ANDERSSON, P. L., WIBERG, K., & AHRENS, L. (2017). Screening and prioritization of micropollutants in wastewaters from on-site sewage treatment facilities. *Journal of Hazardous Materials*, *328*, 37-45.
- GROSSART, H. P. (2010). Ecological consequences of bacterioplankton lifestyles : Changes in concepts are needed. *Environmental Microbiology Reports*, *2*(6), 706-714.
- GUERREIRO, M. A., MARTINHO, F., BAPTISTA, J., COSTA, F., PARDAL, M. Â., & PRIMO, A. L. (2021). Function of estuaries and coastal areas as nursery grounds for marine fish early life stages. *Marine Environmental Research*, *170*, 105408.
- GULLBERG, E., CAO, S., BERG, O. G., ILBÄCK, C., SANDEGREN, L., HUGHES, D., & ANDERSSON, D. I. (2011). Selection of Resistant Bacteria at Very Low Antibiotic Concentrations. *PLOS Pathogens*, *7*(7), e1002158.
- GUO, H., NASIR, M., LV, J., DAI, Y., & GAO, J. (2017). Understanding the variation of microbial community in heavy metals contaminated soil using high throughput sequencing. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *144*(December 2016), 300-306.
- GUO, X.-p., LU, D.-p., NIU, Z.-s., FENG, J.-n., CHEN, Y.-r., TOU, F.-y., LIU, M., & YANG, Y. (2018). Bacterial community structure in response to environmental impacts in the intertidal sediments along the Yangtze Estuary, China. *Marine Pollution Bulletin*, *126*, 141-149.
- GUO, X.-p., YANG, Y., shun NIU, Z., LU, D. P., hong ZHU, C., nan FENG, J., yuan WU, J., ru CHEN, Y., yun TOU, F., LIU, M., & HOU, L. (2019). Characteristics of microbial community indicate anthropogenic impact on the sediments along the Yangtze Estuary and its coastal area, China. *Science of the Total Environment*, *648*, 306-314.
- HAENNI, M., DAGOT, C., CHESNEAU, O., BIBBAL, D., LABANOWSKI, J., VIALETTE, M., BOUCHARD, D., MARTIN-LAURENT, F., CALSAT, L., NAZARET, S., PETIT, F., POURCHER, A. M., TOGOLA, A., BACHELOT, M., TOPP, E., & HOCQUET, D. (2022). Environmental contamination in a high-income country (France) by antibiotics, antibiotic-resistant bacteria, and antibiotic resistance genes : Status and possible causes. *Environment International*, *159*, 107047.

- HAMDHANI, H., EPPEHIMER, D. E., & BOGAN, M. T. (2020). Release of treated effluent into streams : A global review of ecological impacts with a consideration of its potential use for environmental flows. *Freshwater Biology*, 65(9), 1657-1670.
- HAMZEH, M., OUDDANE, B., DAYE, M., & HALWANI, J. (2014). Trace metal mobilization from surficial sediments of the Seine River estuary. *Water, Air, and Soil Pollution*, 225(1878).
- HAN, S., HUANG, Q., & CHEN, W. (2021). Partitioning Nitrospira community structure and co-occurrence patterns in a long-term inorganic and organic fertilization soil. *Journal of Soils and Sediments*, 21(2), 1099-1108.
- HANSCH, C., LEO, A., & HOEKMAN, D. (1995). *Exploring QSAR - Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants*. American Chemical Society.
- HAO, X., ZHU, J., RENSING, C., LIU, Y., GAO, S., CHEN, W., HUANG, Q., & LIU, Y. R. (2021). Recent advances in exploring the heavy metal(loid) resistant microbiome. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 94-109.
- HARMESA, WAHYUDI, A. J., LESTARI & TAUFIQURRAHMAN, E. (2022). Variability of trace metals in coastal and estuary : Distribution, profile, and drivers. *Marine Pollution Bulletin*, 174, 113173.
- HART, B. T. (1982). Uptake of trace metals by sediments and suspended particulates : a review. *Hydrobiologia*, 91, 299-313.
- HAYES, M. O. (1979). Barrier Island Morphology as a Function of Tidal and Wave Regime. In *Barrier Islands* (In Leather, p. 1-27).
- HE, K., HAIN, E., TIMM, A., TARNOWSKI, M., & BLANEY, L. (2019). Occurrence of antibiotics, estrogenic hormones, and UV-filters in water, sediment, and oyster tissue from the Chesapeake Bay. *Science of the Total Environment*, 650, 3101-3109.
- HE, Z. L., YANG, X. E., & STOFFELLA, P. J. (2005a). Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment.
- HE, Z., GENTRY, T. J., SCHADT, C. W., WU, L., LIEBICH, J., CHONG, S. C., HUANG, Z., WU, W., GU, B., JARDINE, P., CRIDDLE, C., & ZHOU, J. (2007). GeoChip : A comprehensive microarray for investigating biogeochemical, ecological and environmental processes. *ISME Journal*, 1, 67-77.
- HE, Z., WU, L., LI, X., FIELDS, M. W., & ZHOU, J. (2005b). Empirical establishment of oligonucleotide probe design criteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(7), 3753-3760.
- HE, Z., ZHANG, P., WU, L., ROCHA, A. M., TU, Q., SHI, Z., WU, B., QIN, Y., WANG, J., YAN, Q., CURTIS, D., NING, D., VAN NOSTRAND, J. D., WU, L., YANG, Y., ELIAS, D. A., WATSON, D. B., ADAMS, M. W., FIELDS, M. W., ... ZHOU, J. (2018). Microbial functional gene diversity predicts groundwater contamination and ecosystem functioning. *mBio*, 9(1).
- HENRIQUES, I. S., ALMEIDA, A., CUNHA, Â., & CORREIA, A. (2004). Molecular sequence analysis of prokaryotic diversity in the middle and outer sections of the Portuguese estuary Ria de Aveiro. *FEMS Microbiology Ecology*, 49(2), 269-279.
- HERLEMANN, D. P., LABRENZ, M., JÜRGENS, K., BERTILSSON, S., WANIEK, J. J., & ANDERSSON, A. F. (2011). Transitions in bacterial communities along the 2000 km salinity gradient of the Baltic Sea. *ISME Journal*, 5, 1571-1579.

- HIBBING, M. E., FUQUA, C., PARSEK, M. R., & PETERSON, S. B. (2009). Bacterial competition : surviving and thriving in the microbial jungle. *Nature Reviews Microbiology*, 8, 15-25.
- HO, Y. F., CHOU, H. Y., CHU, J. S., & LEE, P. I. (2018). Comedication with interacting drugs predisposes amiodarone users in cardiac and surgical intensive care units to acute liver injury : A retrospective analysis. *Medicine (United States)*, 97(37), 1-7.
- HOCH, M. (2001). Organotin compounds in the environment - An overview. *Applied Geochemistry*, 16(7-8), 719-743.
- HU, Y., XIE, G., JIANG, X., SHAO, K., TANG, X., & GAO, G. (2020). The Relationships Between the Free-Living and Particle-Attached Bacterial Communities in Response to Elevated Eutrophication. *Frontiers in Microbiology*, 11(423), 1-14.
- HUANG, W., XIE, Z., YAN, W., MI, W., & XU, W. (2016). Occurrence and distribution of synthetic musks and organic UV filters from riverine and coastal sediments in the Pearl River estuary of China. *Marine Pollution Bulletin*, 111(1-2), 153-159.
- HUBER, H., HOHN, M. J., RACHEL, R., FUCHS, T., WIMMER, V. C., & STETTER, K. O. (2002). A new phylum of Archaea represented by a nanosized hyperthermophilic symbiont. *Nature*, 417, 63-67.
- HUG, L. A., BAKER, B. J., ANANTHARAMAN, K., BROWN, C. T., PROBST, A. J., CASTELLE, C. J., BUTTERFIELD, C. N., HERNSDORF, A. W., AMANO, Y., ISE, K., SUZUKI, Y., DUDEK, N., RELMAN, D. A., FINSTAD, K. M., AMUNDSON, R., THOMAS, B. C., & BANFIELD, J. F. (2016). A new view of the tree of life. *Nature Microbiology*, 1(16048).
- HUGHES, J. B., HELLMANN, J. J., RICKETTS, T. H., & BOHANNAN, B. J. M. (2001). Counting the Uncountable : Statistical Approaches to Estimating Microbial Diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(10), 4399-4406.
- HUGUET, A., THIBAUT, A., ROOSE-AMSALEG, C., PARLANTI, E., LAVERMAN, A., FUSTER, L., BUDZINSKI, H., & VIOLLIER, E. (2018). *Rapport de recherche du programme Seine-Aval. Dynamique de la Matière Organique dans le bouchon vaseux de l'estuaire de Seine en lien avec les nutriments et les Contaminants organiques.* (rapp. tech.). Projet MOSAIC.
- HUME, T. M., SNELDER, T., WEATHERHEAD, M., & LIEFTING, R. (2007). A controlling factor approach to estuary classification. *Ocean and Coastal Management*, 50(11-12), 905-929.
- HUNGATE, B. A., MARKS, J. C., POWER, M. E., SCHWARTZ, E., van GROENIGEN, K. J., BLAZEWICZ, S. J., CHUCKRAN, P., DIJKSTRA, P., FINLEY, B. K., FIRESTONE, M. K., FOLEY, M., GREENLON, A., HAYER, M., HOFMOCKEL, K. S., KOCH, B. J., MACK, M. C., MAU, R. L., MILLER, S. N., MORRISSEY, E. M., ... PETT-RIDGE, J. (2021). The functional significance of bacterial predators. *mBio*, 12(2), 1-10.
- IARC. (1973). *IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of chemicals to Man : Some organochlorine pesticides* (rapp. tech.).
- IARC. (1975). *Some Aziridines, N-, S- and O-Mustards and Selenium. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Man Volume 9.* World Health Organization.
- IBEKWE, A. M., MA, J., & MURINDA, S. E. (2016). Bacterial community composition and structure in an Urban River impacted by different pollutant sources. *Science of the Total Environment*, 566-567, 1176-1185.
- IINO, T., MORI, K., UCHINO, Y., NAKAGAWA, T., HARAYAMA, S., & SUZUKI, K. I. (2010). *Ignavibacterium album* gen. nov., sp. nov., a moderately thermophilic anaerobic bacterium isolated from microbial mats at a

- terrestrial hot spring and proposal of Ignavibacteria classis nov., for a novel lineage at the periphery of green sulfur bacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(6), 1376-1382.
- ILJAZOVIC, A., ROY, U., GÁLVEZ, E. J. C., LESKER, T. R., ZHAO, B., GRONOW, A., AMEND, L., WILL, S. E., HOFMANN, J. D., PILS, M. C., SCHMIDT-HOHAGEN, K., NEUMANN-SCHAAL, M., & STROWIG, T. (2020). Perturbation of the gut microbiome by *Prevotella* spp . enhances host susceptibility to mucosal inflammation. *Mucosal Immunology* 2020 14 :1, 14(1), 113-124.
- IMHOFF, J. F. (2016). New Dimensions in Microbial Ecology—Functional Genes in Studies to Unravel the Biodiversity and Role of Functional Microbial Groups in the Environment. *Microorganisms*, 4(19).
- INERIS. (2006). *INERIS, 2006. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Octylphénols* (rapp. tech.).
- INERIS. (2009). *Biodisponibilité et spéciation : bilan sur les modèles BLM* (rapp. tech.).
- INERIS. (2012). *Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Les polyChloroBiphenyles (PCB)* (rapp. tech.).
- INSTITUTION ADOUR. (2015). *Qualité des eaux et produits phytosanitaires sur le bassin Adour-Garonne. Situation 2013-2014* (rapp. tech.). Agence de l'eau Adour-Garonne.
- INSTITUTION ADOUR. (2017). *Analyse socio-economique des enjeux et usages liés à l'eau du territoire Adour Aval et du SAGE* (rapp. tech.).
- IPCC. (2019). *IPCC Special Report on the Ocean and Cryosphere in a Changing Climate* (H.-O. PÖRTNER, D. ROBERTS, V. MASSON-DELMOTTE, P. ZHAI, M. TIGNOR, E. POLOCZANSKA, K. MINTENBECK, A. ALEGRÍA, M. NICOLAI, A. OKEM, J. PETZOLD, B. RAMA & N. WEYER, Éd.).
- ISLAM, F. S., BOOTHMAN, C., GAULT, A. G., POLYA, D. A., & LLOYD, J. R. (2005). Potential role of the Fe(III) reducing bacteria *Geobacter* and *Geothrix* in controlling arsenic solubility in Bengal delta sediments. *Mineralogical Magazine*, 69(5), 865-875.
- JABARI, L., GANNOUN, H., CAYOL, J. L., HEDI, A., SAKAMOTO, M., FALSEN, E., OHKUMA, M., HAMDI, M., FAUQUE, G., OLLIVIER, B., & FARDEAU, M. L. (2012). *Macelibacteroides fermentans* gen. nov., sp. nov., a member of the family Porphyromonadaceae isolated from an upflow anaerobic filter treating abattoir wastewaters. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(10), 2522-2527.
- JACQUIOD, S., CYRIAQUE, V., RIBER, L., AL-SOUD, W. A., GILLAN, D. C., WATTIEZ, R., & SØRENSEN, S. J. (2018). Long-term industrial metal contamination unexpectedly shaped diversity and activity response of sediment microbiome. *Journal of Hazardous Materials*, 344, 299-307.
- JANNASCH, H. W., & JONES, G. E. (1959). Bacterial Populations in Sea Water as Determined by Different Methods of Enumeration. *Limnology and Oceanography*, 4(2), 128-139.
- JANSSEN, P. H. (2006). Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(3), 1719-1728.
- JEANBILLE, M., GURY, J., DURAN, R., TRONCZYNSKI, J., AGOGUÉ, H., BEN SAÏD, O., GHIGLIONE, J.-F., & AUGUET, J.-C. (2016). Response of Core Microbial Consortia to Chronic Hydrocarbon Contaminations in Coastal Sediment Habitats. *Frontiers in Microbiology*, 7(1637), 1-13.

- JEFFRIES, T. C., SCHMITZ FONTES, M. L., HARRISON, D. P., VAN-DONGEN-VOGELS, V., EYRE, B. D., RALPH, P. J., & SEYMOUR, J. R. (2016). Bacterioplankton dynamics within a large anthropogenically impacted urban estuary. *Frontiers in Microbiology*, 6(1438).
- JIT, S., DADHWAL, M., PRAKASH, O., & LAL, R. (2008). Flavobacterium lindanitolerans sp. nov., isolated from hexachlorocyclohexane-contaminated soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(7), 1665-1669.
- JOHNSTON, E. L., & ROBERTS, D. A. (2009). Contaminants reduce the richness and evenness of marine communities : A review and meta-analysis. *Environmental Pollution*, 157(6), 1745-1752.
- JU, J.-H., KIM, J.-S., LEE, D.-H., JEON, J. H., HEO, S.-Y., SEO, J.-W., KIM, C. H., PARK, D.-S., & OH, B.-R. (2019). Thermomonas aquatica sp. nov., isolated from an industrial wastewater treatment plant. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(11), 3399-3404.
- KACI, A., PETIT, F., FOURNIER, M., CÉCILLON, S., BOUST, D., LESUEUR, P., & BERTHE, T. (2016). Diversity of active microbial communities subjected to long-term exposure to chemical contaminants along a 40-year-old sediment core. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(5), 4095-4110.
- KALYUZHNYA, M. G., BOWERMAN, S., LARA, J. C., LIDSTROM, M. E., & CHISTOSERDOVA, L. (2006). Methylothermobacter mobilis gen. nov., sp. nov., an obligately methylamine-utilizing bacterium within the family Methylothermobacteraceae. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 56, 2819-2823.
- KÄMPFER, P., BUSSE, H.-J., MCINROY, J. A., XU, J., & GLAESER, S. P. (2015). Flavobacterium nitrogenifigens sp. nov., isolated from switchgrass (Panicum virgatum). *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 65(9), 2803-2809.
- KANZI, A. M., SAN, J. E., CHIMUKANGARA, B., WILKINSON, E., FISH, M., RAMSURAN, V., & de OLIVEIRA, T. (2020). Next Generation Sequencing and Bioinformatics Analysis of Family Genetic Inheritance. *Frontiers in Genetics*, 11, 1250.
- KARICKHOFF, S. W., BROWN, D. S., & SCOTT, T. A. (1979). Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water Research*, 13(3), 241-248.
- KASHEFI, K., HOLMES, D. E., BAROSS, J. A., & LOVLEY, D. R. (2003). Thermophilicity in the Geobacteraceae : Geothermobacter ehrlichii gen. nov., sp. nov., a novel thermophilic member of the geobacteraceae from the "Bag City" hydrothermal vent. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(5), 2985-2993.
- KELLY, N. E., GUIJARRO-SABANIEL, J., & ZIMMERMAN, R. (2021). Anthropogenic nitrogen loading and risk of eutrophication in the coastal zone of Atlantic Canada. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 263, 107630.
- KENNISH, M. J. (2002). Environmental threats and environmental future of estuaries. *Environmental Conservation*, 29(1), 78-107.
- KHOJASTEH, D., GLAMORE, W., HEIMHUBER, V., & FELDER, S. (2021). Sea level rise impacts on estuarine dynamics : A review. *Science of The Total Environment*, 780, 146470.
- KIEFT, B., LI, Z., BRYSON, S., CRUMP, B. C., HETTICH, R., PAN, C., MAYALI, X., & MUELLER, R. S. (2018). Microbial community structure-function relationships in Yaquina Bay estuary reveal spatially distinct carbon and nitrogen cycling capacities. *Frontiers in Microbiology*.
- KIRCHMAN, D. L. (2002). The ecology of Cytophaga-Flavobacteria in aquatic environments. *FEMS Microbiology Ecology*, 39, 91-100.

- KIRCHMAN, D. L., DITTEL, A. I., MALMSTROM, R. R., & COTTRELL, M. T. (2005). Biogeography of major bacterial groups in the Delaware Estuary. *Limnology and Oceanography*, 50(5), 1697-1706.
- KISAND, V., CUADROS, R., & WIKNER, J. (2002). Phylogeny of culturable estuarine bacteria catabolizing riverine organic matter in the northern Baltic Sea. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(1), 379-388.
- KIVITS, T., BROERS, H. P., BEELTJE, H., van VLIET, M., & GRIFFIOEN, J. (2018). Presence and fate of veterinary antibiotics in age-dated groundwater in areas with intensive livestock farming. *Environmental Pollution*, 241, 988-998.
- KLAPPENBACH, J. A., DUNBAR, J. M., & SCHMIDT, T. M. (2000). rRNA operon copy number reflects ecological strategies of bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(4), 1328-1333.
- KNITTEL, K., & BOETIUS, A. (2009). Anaerobic Oxidation of Methane : Progress with an Unknown Process. *Annual Review of Microbiology*, 63, 311-334.
- KOROLEFF, F. (1969). Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. *International Council for the Exploration of the Sea*.
- KOWALSKA, J. B., MAZUREK, R., GASIOREK, M., & ZALESKI, T. (2018). Pollution indices as useful tools for the comprehensive evaluation of the degree of soil contamination—A review. *Environmental Geochemistry and Health*, 40, 2395-2420.
- KUBO, A., & KANDA, J. (2017). Seasonal variations and sources of sedimentary organic carbon in Tokyo Bay. *Marine Pollution Bulletin*, 114(2), 637-643.
- KUDO, A., & MIYAHARA, S. (1991). A case history; Minamata mercury pollution in Japan - from loss of human lives to decontamination. *Water Science and Technology*, 23(1-3), 283-290.
- KUDO, Y., NAKAJIMA, T., MIYAKI, T., & OYAIZU, H. (1997). Methanogen flora of paddy soils in Japan. *FEMS Microbiology Ecology*, 22(1), 39-48.
- KUMMU, M., DE MOEL, H., SALVUCCI, G., VIVIROLI, D., WARD, P. J., & VARIS, O. (2016). Over the hills and further away from coast : global geospatial patterns of human and environment over the 20th–21st centuries. *Environmental Research Letters*, 11(3), 034010.
- LAMARTINA, E. L., MOHAIMANI, A. A., & NEWTON, R. J. (2021). Urban wastewater bacterial communities assemble into seasonal steady states. *Microbiome*, 9(116), 1-13.
- LANCELEUR, L., SCHÄFER, J., BOSSY, C., COYNEL, A., LARROSE, A., MASSON, M., & BLANC, G. (2011). Silver fluxes to the Gironde Estuary - Eleven years (1999-2009) of monitoring at the watershed scale. *Applied Geochemistry*, 26, 797-808.
- LAPOUSSIÈRE, A., MICHEL, C., STARR, M., GOSSELIN, M., & POULIN, M. (2011). Role of free-living and particle-attached bacteria in the recycling and export of organic material in the Hudson Bay system. *Journal of Marine Systems*, 88, 434-445.
- LARROSE, A., COYNEL, A., SCHÄFER, J., BLANC, G., MASSÉ, L., & MANEUX, E. (2010). Assessing the current state of the Gironde Estuary by mapping priority contaminant distribution and risk potential in surface sediment. *Applied Geochemistry*, 25(12), 1912-1923.
- LAU, K. E., WASHINGTON, V. J., FAN, V., NEALE, M. W., LEAR, G., CURRAN, J., & LEWIS, G. D. (2015). A novel bacterial community index to assess stream ecological health. *Freshwater Biology*, 60(10), 1988-2002.

- LAWSON, P. A. (2015). <i>Arsenicococcus</i>. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (p. 1-5). Wiley.
- LE COADOU, L., LE MÉNACH, K., LABADIE, P., DÉVIER, M. H., PARDON, P., AUGAGNEUR, S., & BUDZINSKI, H. (2017). Quality survey of natural mineral water and spring water sold in France : Monitoring of hormones, pharmaceuticals, pesticides, perfluoroalkyl substances, phthalates, and alkylphenols at the ultra-trace level. *Science of the Total Environment*, 603-604, 651-662.
- LEAR, G., BOOTHROYD, I. K. G., TURNER, S. J., ROBERTS, K., & LEWIS, G. D. (2009). A comparison of bacteria and benthic invertebrates as indicators of ecological health in streams. *Freshwater Biology*, 54(7), 1532-1543.
- LEE, L. S., SURESH, P., RAO, C., & ITARU, O. (1992). Equilibrium Partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Coal Tar into Water. *Environmental Science and Technology*, 26(11), 2110-2115.
- LEE, S. D. (2006). *Blastococcus jejuensis* sp. nov., an actinomycete from beach sediment, and emended description of the genus *Blastococcus* Ahrens and Moll 1970. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(10), 2391-2396.
- LEFRANC, M., THÉNOT, A., LEPÈRE, C., & DEBROAS, D. (2005). Genetic diversity of small eukaryotes in lakes differing by their trophic status. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(10), 5935-5942.
- LELOUP, J., PETIT, F., BOUST, D., DELOFFRE, J., BALLY, G., CLARISSE, O., & QUILLET, L. (2005). Dynamics of sulfate-reducing microorganisms (dsrAB genes) in two contrasting mudflats of the Seine estuary (France). *Microbial ecology*, 50(3), 307-314.
- LEWIS, K., EPSTEIN, S., D'ONOFRIO, A., & LING, L. L. (2010). Uncultured microorganisms as a source of secondary metabolites. *The Journal of Antibiotics*, 63(8), 468-476.
- LI, C., QUAN, Q., GAN, Y., DONG, J., FANG, J., WANG, L., & LIU, J. (2020). Effects of heavy metals on microbial communities in sediments and establishment of bioindicators based on microbial taxa and function for environmental monitoring and management. *Science of the Total Environment*, 749, 1-9.
- LI, F., HUANG, Y., HU, W., LI, Z., WANG, Q., HUANG, S., JIANG, F., & PAN, X. (2021a). *Roseomonas coralli* sp. Nov., a heavy metal resistant bacterium isolated from coral. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 71(2), 1-7.
- LI, J. L., SALAM, N., WANG, P. D., CHEN, L. X., JIAO, J. Y., LI, X., XIAN, W. D., HAN, M. X., FANG, B. Z., MOU, X. Z., & LI, W. J. (2018). Discordance Between Resident and Active Bacterioplankton in Free-Living and Particle-Associated Communities in Estuary Ecosystem. *Microbial ecology*, 76(3), 637-647.
- LI, X., WAN, W., ZHENG, L., WANG, A., LUO, X., HUANG, Q., & CHEN, W. (2021b). Community assembly mechanisms and co-occurrence patterns of nitrite-oxidizing bacteria communities in saline soils. *Science of the Total Environment*, 772(145472).
- LI, Z., SOBEK, A., & RADKE, M. (2016). Fate of Pharmaceuticals and Their Transformation Products in Four Small European Rivers Receiving Treated Wastewater. *Environmental Science and Technology*, 50, 5614-5621.
- LIANG, X., CHEN, B., NIE, X., SHI, Z., HUANG, X., & LI, X. (2013). The distribution and partitioning of common antibiotics in water and sediment of the Pearl River Estuary, South China. *Chemosphere*, 92(11), 1410-1416.
- LIMA, A. L. C., FARRINGTON, J. W., & REDDY, C. M. (2005). Combustion-Derived Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Environment—A Review. *Environmental Forensics*, 6, 109-131.

- LIU, G. Q., ZHANG, G., LI, X. D., LI, J., PENG, X. Z., & QI, S. H. (2005). Sedimentary record of polycyclic aromatic hydrocarbons in a sediment core from the Pearl River Estuary, South China. *Marine Pollution Bulletin*, 51(8-12), 912-921.
- LIU, J. L., & WONG, M. H. (2013). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) : A review on environmental contamination in China. *Environment International*, 59, 208-224.
- LIU, J., YANG, H., ZHAO, M., & ZHANG, X. H. (2014a). Spatial distribution patterns of benthic microbial communities along the Pearl Estuary, China. *Systematic and Applied Microbiology*, 37(8), 578-589.
- LIU, J., YU, S., ZHAO, M., HE, B., & ZHANG, X.-H. H. (2014b). Shifts in archaeoplankton community structure along ecological gradients of Pearl Estuary. *FEMS Microbiology Ecology*, 90, 424-435.
- LIU, P., YANG, Y., & LI, M. (2020a). Responses of soil and earthworm gut bacterial communities to heavy metal contamination. *Environmental Pollution*, 265, 114921.
- LIU, X., PAN, J., LIU, Y., LI, M., & GU, J. D. (2018). Diversity and distribution of Archaea in global estuarine ecosystems. *Science of the Total Environment*, 637-638, 349-358.
- LIU, Y., LIN, Q., FENG, J., YANG, F., DU, H., HU, Z., & WANG, H. (2020b). Differences in metabolic potential between particle-associated and free-living bacteria along Pearl River Estuary. *Science of The Total Environment*, 728(138856), 1-9.
- LIU, Z., LIN, S., & PIANTADOSI, S. (2015). Network construction and structure detection with metagenomic count data. *BioData Mining*, 8(40), 1-14.
- LLADÓ, S., COVINO, S., SOLANAS, A. M., PETRUCCIOLI, M., D'ANNIBALE, A., & VIÑAS, M. (2015). Pyrosequencing reveals the effect of mobilizing agents and lignocellulosic substrate amendment on microbial community composition in a real industrial PAH-polluted soil. *Journal of Hazardous Materials*, 283, 35-43.
- LONG, E. R., FIELD, L. J., & MACDONALD, D. D. (1998). Predicting toxicity in marine sediments with numerical sediment quality guidelines. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(4), 714-727.
- LONG, E. R., MACDONALD, D. D., SMITH, S. L., & CALDER, F. D. (1995). Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environmental Management*, 19(1), 81-97.
- LORENZEN, C. J. (1967). Determination of chlorophyll and pheo-pigments : Spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography 60th Anniversary Special Collection*, 12(2), 343-346.
- LOUCA, S., POLZ, M. F., MAZEL, F., ALBRIGHT, M. B., HUBER, J. A., O'CONNOR, M. I., ACKERMANN, M., HAHN, A. S., SRIVASTAVA, D. S., CROWE, S. A., DOEBELI, M., & PARFREY, L. W. (2018). Function and functional redundancy in microbial systems. *Nature Ecology and Evolution*, 2(6), 936-943.
- LOZUPONE, C. A., & KNIGHT, R. (2007). Global patterns in bacterial diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(27), 11436-11440.
- LU, X. M., CHEN, C., & ZHENG, T. L. (2017). Metagenomic Insights into Effects of Chemical Pollutants on Microbial Community Composition and Function in Estuarine Sediments Receiving Polluted River Water. *Microbial Ecology*, 73(4), 791-800.
- LÜCKER, S., WAGNER, M., MAIXNER, F., PELLETIER, E., KOCH, H., VACHERIE, B., RATTEI, T., DAMSTÉ, J. S., SPIECK, E., LE PASLIER, D., & DAIMS, H. (2010). A *Nitrospira* metagenome illuminates the physiology

- and evolution of globally important nitrite-oxidizing bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(30), 13479-13484.
- LUO, F., ZHONG, J., YANG, Y., SCHEUERMANN, R. H., & ZHOU, J. (2006). Application of random matrix theory to biological networks. *Physics Letters, Section A : General, Atomic and Solid State Physics*, 357(6), 420-423.
- LUO, X. J., MAI, B. X., YANG, Q. S., CHEN, S. J., & ZENG, E. Y. (2007). Distribution and partition of polycyclic aromatic hydrocarbon in surface water of the Pearl River Estuary, South China. *Environmental Monitoring and Assessment*, 145, 427-436.
- LUO, Y., GUO, W., NGO, H. H., NGHIEM, L. D., HAI, F. I., ZHANG, J., LIANG, S., & WANG, X. C. (2014). A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Science of the Total Environment*, 473-474, 619-641.
- LURIA, C. M., AMARAL-ZETTLER, L. A., DUCKLOW, H. W., & RICH, J. J. (2016). Seasonal succession of free-living bacterial communities in coastal waters of the western antarctic peninsula. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1731.
- LV, X., MA, B., YU, J., CHANG, S. X., XU, J., LI, Y., WANG, G., HAN, G., BO, G., & CHU, X. (2016). Bacterial community structure and function shift along a successional series of tidal flats in the Yellow River Delta. *Scientific Reports*, 6(36550), 1-10.
- MACKAY, D., & LEINONEN, P. J. (1975). Rate of Evaporation of Low-Solubility Contaminants from Water Bodies to Atmosphere. *Environmental Science and Technology*, 9(13), 1178-1180.
- MACKAY, D., & SHIU, W. Y. (1977). Aqueous Solubility of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 22(4), 399-402.
- MAGI, E., BIANCO, R., IANNI, C., & DI CARRO, M. (2002). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the Adriatic Sea. *Environmental Pollution*, 119(1), 91-98.
- MAISANO, M., CAPPELLO, T., OLIVA, S., NATALOTTO, A., GIANNETTO, A., PARRINO, V., BATTAGLIA, P., ROMEO, T., SALVO, A., SPANÒ, N., & MAUCERI, A. (2016). PCB and OCP accumulation and evidence of hepatic alteration in the Atlantic bluefin tuna, *T. thynnus*, from the Mediterranean Sea. *Marine Environmental Research*, 121, 40-48.
- MAO, Z., ZHENG, X. F., ZHANG, Y. Q., TAO, X. X., LI, Y., & WANG, W. (2012). Occurrence and biodegradation of nonylphenol in the environment. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(1), 491-505.
- MARGULIES, M., EGHOLM, M., ALTMAN, W. E., ATTIYA, S., BADER, J. S., BEMBEN, L. A., BERKA, J., BRAVERMAN, M. S., CHEN, Y. J., CHEN, Z., DEWELL, S. B., DU, L., FIERRO, J. M., GOMES, X. V., GODWIN, B. C., HE, W., HELGESEN, S., HO, C. H., IRZYK, G. P., ... ROTHBERG, J. M. (2005). Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*, 437(7057), 376-380.
- MARTIN, C. L., MOMTAZ, S., GASTON, T., & MOLTSCHANIWSKYJ, N. A. (2020). Mapping the intangibles : Cultural ecosystem services derived from Lake Macquarie estuary, New South Wales, Australia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 243.
- MARTY, S., & PICOULET, K. (2017). *Relais Adour S.N.P.E. Campagne 2016-2017* (rapp. tech.).
- MASLOV, S., & SNEPPEN, K. (2002). Specificity and Stability in Topology of Protein Networks. *Science*, 296(5569), 910-913.

- MATCHER, G. F., FRONEMAN, P. W., MEIKLEJOHN, I., & DORRINGTON, R. A. (2018). Distinct responses of bacterial communities to agricultural and urban impacts in temperate southern African estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 200, 224-233.
- MAXAM, A. M., & GILBERT, W. (1977). A new method for sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(2), 560-564.
- MCBRIDE, M., XIE, G., MARTENS, E., LAPIDUS, A., HENRISSAT, B., RHODES, R., GOLTSMAN, E., WANG, W., XU, J., HUNNICUTT, D., STAROSCIK, A., HOOVER, T., CHENG, Y., & STEIN, J. (2009). Novel features of the polysaccharide-digesting gliding bacterium *Flavobacterium johnsoniae* as revealed by genome sequence analysis. *Applied and environmental microbiology*, 75(21), 6864-6875.
- McFARLAND, J. W., AVDEEF, A., BERGER, C. M., & RAEVSKY, O. A. (2001). Estimating the water solubilities of crystalline compounds from their chemical structures alone. *Journal of chemical information and computer sciences*, 41(5), 1355-1359.
- McFARLAND, J. W., BERGER, C. M., FROSHAUER, S. A., HAYASHI, S. F., HECKER, S. J., JAYNES, B. H., JEFSON, M. R., KAMICKER, B. J., LIPINSKI, C. A., LUNDY, K. M., REESE, C. P., & VU, C. B. (1997). Quantitative structure-activity relationships among macrolide antibacterial agents : In vitro and in vivo potency against *Pasteurella multocida*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 40(9), 1340-1346.
- MCGENTY, T. J., FOLWELL, B. D., MCKEW, B. A., & SANI, G. O. (2012). Marine crude-oil biodegradation : a central role for interspecies interactions. *Aquatic Biosystems*, 8(10), 1-19.
- MCLELLAN, S. L., SAUER, E. P., CORSI, S. R., BOOTSMA, M. J., BOEHM, A. B., SPENCER, S. K., & BORCHARDT, M. A. (2018). Sewage loading and microbial risk in urban waters of the Great Lakes. *Elementa : Science of the Anthropocene*, 6(46).
- MCLELLAN, S., HUSE, S., MUELLER-SPITZ, S., ANDREISHCHEVA, E., & SOGIN, M. (2010). Diversity and population structure of sewage-derived microorganisms in wastewater treatment plant influent. *Environmental microbiology*, 12(2), 378-392.
- MCLUSKY, D. S. (1993). Marine and estuarine gradients - An overview. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology*, 27, 489-493.
- MCMURDIE, P. J., & HOLMES, S. (2013). Phyloseq : An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS One*, 8(4).
- MEANS, J. C., WOOD, S. G., HASSETT, J. J., & BANWART, W. L. (1980). Sorption of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons by Sediments and Soils. *Environmental Science and Technology*, 14(12), 1524-1528.
- MEHRANI, M. J., SOBOTKA, D., KOWAL, P., CIESIELSKI, S., & MAKINIA, J. (2020). The occurrence and role of *Nitrospira* in nitrogen removal systems. *Bioresource Technology*, 303, 122936.
- MEI, R., NOBU, M. K., NARIHIRO, T., & LIU, W.-T. (2020). Metagenomic and Metatranscriptomic Analyses Revealed Uncultured Bacteroidales Populations as the Dominant Proteolytic Amino Acid Degradors in Anaerobic Digesters. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2763.
- MENG, J., XU, J., QIN, D., HE, Y., XIAO, X., & WANG, F. (2014). Genetic and functional properties of uncultivated MCG archaea assessed by metagenome and gene expression analyses. *ISME Journal*, 8(3), 650-659.

- MENG, L., LIU, H., LAN, T., DONG, L., HU, H., ZHAO, S., ZHANG, Y., ZHENG, N., & WANG, J. (2020). Antibiotic Resistance Patterns of *Pseudomonas* spp. Isolated From Raw Milk Revealed by Whole Genome Sequencing. *Frontiers in Microbiology*, *11*(1005), 1-10.
- MENZIE, C. A., POTOCKI, B. B., & JOSEPH, S. (1992). Exposure to Carcinogenic PAHs in The Environment. *Environmental Science and Technology*, *26*(7), 1278-1284.
- METZKER, M. L. (2010). Sequencing technologies the next generation. *Nature Reviews Genetics*, *11*(1), 31-46.
- MEYLAN, W. M., HOWARD, P. H., & BOETHLING, R. S. (1996). Improved method for estimating water solubility from octanol/water partition coefficient. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *15*(2), 100-106.
- MICHAEL, I., RIZZO, L., MCARDELL, C. S., MANAIA, C. M., MERLIN, C., SCHWARTZ, T., DAGOT, C., & FATTAKASSINOS, D. (2013). Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment : A review. *Water Research*, *47*(3), 957-995.
- MIKHAILOV, V. N., & GORIN, S. L. (2012). New definitions, regionalization, and typification of river mouth areas and estuaries as their parts. *Water Resources*, *39*(3), 247-260.
- MILLER, T. R., HEIDLER, J., CHILLRUD, S. N., DELAQUIL, A., RITCHIE, J. C., MIHALIC, J. N., BOPP, R., HALDEN, R. U., TR, M., J, H., SN, C., A, D., JC, R., JN, M., R, B., & RU, H. (2008). Fate of Triclosan and Evidence for Reductive Dechlorination of Triclocarban in Estuarine Sediments. *Environmental science & technology*, *42*(12), 4570.
- MINISTÈRE DE LA TRANSITION ÉCOLOGIQUE ET SOLIDAIRE. (2019). Portail d'information sur l'assainissement communal.
- MISSON, B., GARNIER, C., LAUGA, B., DANG, D. H., GHIGLIONE, J. F., MULLOT, J. U., DURAN, R., & PRINGAULT, O. (2016). Chemical multi-contamination drives benthic prokaryotic diversity in the anthropized Toulon Bay. *Science of the Total Environment*, *556*, 319-329.
- MOHIT, V., ARCHAMBAULT, P., TOUPOINT, N., & LOVEJOY, C. (2014). Phylogenetic differences in attached and free-living bacterial communities in a temperate coastal lagoon during summer, revealed via high-throughput 16S rRNA gene sequencing. *Applied and Environmental Microbiology*, *80*(7), 2071-2083.
- MOJIRI, A., ZHOU, J. L., OHASHI, A., OZAKI, N., & KINDAICHI, T. (2019). Comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sources, their effects and treatments. *Science of The Total Environment*, *696*, 133971.
- MOLARI, M., JANSSEN, F., VONNAHME, T. R., WENZHÖFER, F., & BOETIUS, A. (2020). The contribution of microbial communities in polymetallic nodules to the diversity of the deep-sea microbiome of the Peru Basin (4130-4198m depth). *Biogeosciences*, *17*(12), 3203-3222.
- MONPERRUS, M., KRUPP, E., AMOUROUX, D., DONARD, O. F., & RODRÍGUEZ MARTÍN-DOIMEADIOS, R. C. (2004). Potential and limits of speciated isotope-dilution analysis for metrology and assessing environmental reactivity. *Trends in Analytical Chemistry*, *23*(3), 261-272.
- MONPERRUS, M., TESSIER, E., VESCHAMBRE, S., AMOUROUX, D., & DONARD, O. (2005). Simultaneous speciation of mercury and butyltin compounds in natural waters and snow by propylation and species-specific isotope dilution mass spectrometry analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *381*, 854-862.
- MONPERRUS, M., RODRIGUEZ GONZALEZ, P., AMOUROUX, D., GARCIA ALONSO, J. I., & DONARD, O. F. (2008). Evaluating the potential and limitations of double-spiking species-specific isotope dilution analysis for the

- accurate quantification of mercury species in different environmental matrices. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 390, 655-666.
- MOORE, C. M., MILLS, M. M., ARRIGO, K. R., BERMAN-FRANK, I., BOPP, L., BOYD, P. W., GALBRAITH, E. D., GEIDER, R. J., GUIEU, C., JACCARD, S. L., JICKELLS, T. D., LA ROCHE, J., LENTON, T. M., MAHOWALD, N. M., MARAÑÓN, E., MARINOV, I., MOORE, J. K., NAKATSUKA, T., OSCHLIES, A., ... ULLOA, O. (2013). Processes and patterns of oceanic nutrient limitation. *Nature Geoscience*, 6, 701-710.
- MORRICE, K. J., BAPTISTA, A. M., & BURKE, B. J. (2020). Environmental and behavioral controls on juvenile Chinook salmon migration pathways in the Columbia River estuary. *Ecological Modelling*, 427, 109003.
- MORRIS, R. M., RAPPÉ, M. S., CONNON, S. a., VERGIN, K. L., SIEBOLD, W. a., CARLSON, C. a., & GIOVANNONI, S. J. (2002). SAR11 clade dominates ocean surface bacterioplankton communities. *Nature*, 420(December), 806-810.
- MULLIN, J. B., & RILEY, J. P. (1955). The spectrophotometric determination of nitrate in natural waters, with particular reference to sea-water. *Analytica Chimica Acta*, 12, 464-480.
- MURALI, A., BHARGAVA, A., & WRIGHT, E. S. (2018). IDTAXA : A novel approach for accurate taxonomic classification of microbiome sequences. *Microbiome*, 6(1).
- MURPHY, J., & RILEY, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27, 31-36.
- MURPHY, T. J., MEYER, J. A., & MULLIN, M. D. (1987). Equilibration of Polychlorinated Biphenyls and Toxaphene with Air and Water. *Environmental Science and Technology*, 21(2), 155-162.
- MUSTAFA, K. K., MAULUD, S. Q., & HAMAD, P. A. (2018). Detection of *Sphingomonas paucimobilis* and antibacterial activity of *Prosopis farcta* extracts on it. *Karbala International Journal of Modern Science*, 4(1), 100-106.
- NAIDU, R., BISWAS, B., WILLETT, I. R., CRIBB, J., KUMAR SINGH, B., PAUL NATHANAIL, C., COULON, F., SEMPLE, K. T., JONES, K. C., BARCLAY, A., & JOHN AITKEN, R. (2021). Chemical pollution : A growing peril and potential catastrophic risk to humanity. *Environment international*, 156, 1-12.
- NAKAGAWA, S., TAKAI, K., INAGAKI, F., HIRAYAMA, H., NUNOURA, T., HORIKOSHI, K., & SAKO, Y. (2005). Distribution, phylogenetic diversity and physiological characteristics of epsilon-Proteobacteria in a deep-sea hydrothermal field. *Environmental Microbiology*, 7(10), 1619-1632.
- NARO-MACIEL, E., INGALA, M. R., WERNER, I. E., & FITZGERALD, A. M. (2020). 16S rRNA Amplicon Sequencing of Urban Prokaryotic Communities in the South Bronx River Estuary. *Microbiology Resource Announcements*, 9(22).
- NECIBI, M., LANCELEUR, L., MZOUGH, N., & MONPERRUS, M. (2016). Determination of Synthetic Musks in Surface Sediment from the Bizerte Lagoon by QuEChERS Extraction Followed by GC-MS. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 97(5), 659-669.
- NEWMAN, M. E. (2004). Fast algorithm for detecting community structure in networks. *Physical Review E - Statistical Physics, Plasmas, Fluids, and Related Interdisciplinary Topics*, 69(6 Pt 2), 066133.
- NEWTON, R. J., JONES, S. E., EILER, A., MCMAHON, K. D., & BERTILSSON, S. (2011). A Guide to the Natural History of Freshwater Lake Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 75(1), 14-49.

- NEWTON, R. J., BOOTSMA, M. J., MORRISON, H. G., SOGIN, M. L., & MCLELLAN, S. L. (2013). A microbial signature approach to identify fecal pollution in the waters off an urbanized coast of Lake Michigan. *Microbial ecology*, *65*, 1011-1023.
- NEWTON, R. J., & MCLELLAN, S. L. (2015). A unique assemblage of cosmopolitan freshwater bacteria and higher community diversity differentiate an urbanized estuary from oligotrophic Lake Michigan. *Frontiers in Microbiology*, *6*, 1028.
- NICHOLS, F. H., & THOMPSON, J. K. (1985). Time scales of change in the San Francisco Bay benthos. *Hydrobiologia*, *129*(1), 121-138.
- NIEDRINGHAUS, T. P., MILANOVA, D., KERBY, M. B., SNYDER, M. P., & BARRON, A. E. (2011). Landscape of Next-Generation Sequencing Technologies. *Analytical Chemistry*, *83*(12), 4327-4341.
- NIKOLAOU, A., KOSTOPOULOU, M., LOFRANO, G., & MERIC, S. (2009). Determination of PAHs in marine sediments : Analytical methods and environmental concerns. *Global Nest Journal*, *11*(4), 391-405.
- NIU, L., LI, Y., WANG, P., ZHANG, W., WANG, C., LI, J., & WU, H. (2018). Development of a microbial community-based index of biotic integrity (MC-IBI) for the assessment of ecological status of rivers in the Taihu Basin, China. *Ecological Indicators*, *85*, 204-213.
- NÖLVAK, H., TRUU, M., OOPKAUP, K., KANGER, K., KRUSTOK, I., NEHRENHEIM, E., & TRUU, J. (2018). Reduction of antibiotic resistome and integron-integrase genes in laboratory-scale photobioreactors treating municipal wastewater. *Water Research*, *142*, 363-372.
- NOUHA, K., KUMAR, R. S., & TYAGI, R. D. (2016). Heavy metals removal from wastewater using extracellular polymeric substances produced by *Cloacibacterium normanense* in wastewater sludge supplemented with crude glycerol and study of extracellular polymeric substances extraction by different methods. *Bioresource Technology*, *212*, 120-129.
- NOWARA, A., BURHENNE, J., & SPITELLER, M. (1997). Binding of Fluoroquinolone Carboxylic Acid Derivatives to Clay Minerals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *45*(4), 1459-1463.
- NRIAGU, J. O. (1989). A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. *Nature*, *338*(6210), 47-49.
- OBERLÉ, K., CAPDEVILLE, M. J., BERTHE, T., BUDZINSKI, H., & PETIT, F. (2012). Evidence for a complex relationship between antibiotics and antibiotic-resistant *Escherichia coli* : From medical center patients to a receiving environment. *Environmental Science and Technology*, *46*, 1859-1868.
- OBIMAKINDE, S., FATOKI, O., OPEOLU, B., & OLATUNJI, O. (2017). Veterinary pharmaceuticals in aqueous systems and associated effects : an update. *Environmental Science and Pollution Research*, *24*(4), 3274-3297.
- OCDE. (2017). *Guidance on the Incorporation of Bioavailability Concepts for Assessing the Chemical Ecological Risk and/or Environmental Threshold Values of Metals and Inorganic Metal Compounds* (rapp. tech.). Paris, OECD.
- OKAMOTO, A., YAMAMURO, M., & TATARAZAKO, N. (2015). Acute toxicity of 50 metals to *Daphnia magna*. *Journal of Applied Toxicology*, *35*(7), 824-830.
- OKSANEN, J., BLANCHET, F. G., FRIENDLY, M., KINDT, R., LEGENDRE, P., MCGLINN, D., MINCHIN, P. R., O'HARA, R. B., SIMPSON, G. L., SOLYMOS, P., STEVENS, M. H. H., SZOECES, E., & WAGNER, H. (2020). vegan : Community ecology package.

- O'NEIL, M. J. (2013). *The Merck Index : An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals* (ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY, Éd. ; 15th Editi).
- OPPERHULZEN, A., GOBAS, F. A., VAN DER STEEN, J. M., & HUTZLINGER, O. (1988). Aqueous Solubility of Polychlorinated Biphenyls Related to Molecular Structure. *Environmental Science and Technology*, 22(6), 638-646.
- OREN, A., DA COSTA, M. S., GARRITY, G. M., RAINEY, F. A., ROSSELLÓ-MÓRA, R., SCHINK, B., SUTCLIFFE, I., TRUJILLO, M. E., & WHITMAN, W. B. (2015). Proposal to include the rank of phylum in the international code of nomenclature of prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65, 4284-4287.
- OREN, A., & GARRITY, G. M. (2021). Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 71(10), 005056.
- ORTEGA-RETUERTA, E., JOUX, F., JEFFREY, W. H., & GHIGLIONE, J. F. (2013). Spatial variability of particle-attached and free-living bacterial diversity in surface waters from the Mackenzie River to the Beaufort Sea (Canadian Arctic). *Biogeosciences*, 10(4), 2747-2759.
- OSIŃSKA, A., HARNISZ, M., & KORZENIEWSKA, E. (2016). Prevalence of plasmid-mediated multidrug resistance determinants in fluoroquinolone-resistant bacteria isolated from sewage and surface water. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(11), 10818-10831.
- OSPAR COMMISSION. (2009). *Background Document on nonylphenol/nonylphenol ethoxylates* (rapp. tech.).
- OVERMANN, J., ABT, B., & SIKORSKI, J. (2017). Present and Future of Culturing Bacteria. *Annual review of microbiology*, 71, 711-730.
- PACE, N. R. (2006). Time for a change. *Nature*, 441(7091), 289.
- PADILLA, C. C., GANESH, S., GANTT, S., HUHMANN, A., PARRIS, D. J., SARODE, N., & STEWART, F. J. (2015). Standard filtration practices may significantly distort planktonic microbial diversity estimates. *Frontiers in Microbiology*, 6(547).
- PAISSÉ, S., COULON, F., GOÑI-URRIZA, M., PEPPERZAK, L., MCGENTY, T. J., & DURAN, R. (2008). Structure of bacterial communities along a hydrocarbon contamination gradient in a coastal sediment. *FEMS Microbiology Ecology*, 66, 295-305.
- PALOMO, A., JANE FOWLER, S., GÜLAY, A., RASMUSSEN, S., SICHERITZ-PONTEN, T., & SMETS, B. F. (2016). Metagenomic analysis of rapid gravity sand filter microbial communities suggests novel physiology of *Nitrospira* spp. *ISME Journal*, 10(11), 2569-2581.
- PALOMO, A., PEDERSEN, A. G., FOWLER, S. J., DECHESNE, A., SICHERITZ-PONTÉN, T., & SMETS, B. F. (2018). Comparative genomics sheds light on niche differentiation and the evolutionary history of comammox *Nitrospira*. *ISME Journal*, 12(7), 1779-1793.
- PAN, K., & WANG, W. X. (2012). Trace metal contamination in estuarine and coastal environments in China. *Science of the Total Environment*, 421-422, 3-16.
- PANAGIOTAKOPULU, E., BUCKLAND, P. C., DAY, P. M., SARPAKI, A. A., & DOUMAS, C. (1995). Natural insecticides and insect repellents in antiquity : A review of the evidence. *Journal of Archaeological Science*, 22(5), 705-710.

- PARADA, A. E., NEEDHAM, D. M., & FUHRMAN, J. A. (2016). Every base matters : Assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples. *Environmental Microbiology*, 18(5), 1403-1414.
- PARKER, B. J., WEARSCH, P. A., VELOO, A. C. M., & RODRIGUEZ-PALACIOS, A. (2020). The Genus *Alistipes* : Gut Bacteria With Emerging Implications to Inflammation, Cancer, and Mental Health. *Frontiers in Immunology*, 11(906), 1-15.
- PARLANTI, E., WÖRZ, K., GEOFFROY, L., & LAMOTTE, M. (2000). Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Organic Geochemistry*, 31(12), 1765-1781.
- PASCUAL, J., GARCÍA-LÓPEZ, M., GONZÁLEZ, I., & GENILLOU, O. (2017). *Luteolibacter gellanilyticus* sp. Nov., a gellan-gum-degrading bacterium of the phylum verrucomicrobia isolated from miniaturized diffusion chambers. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(10), 3951-3959.
- PASCUAL-BENITO, M., BALLESTÉ, E., MONLEÓN-GETINO, T., URMENETA, J., BLANCH, A. R., GARCÍA-ALJARO, C., & LUCENA, F. (2020). Impact of treated sewage effluent on the bacterial community composition in an intermittent mediterranean stream. *Environmental Pollution*, 266, Part(115254).
- PAULSEN, I. T., SLIWINSKI, M. K., NELISSEN, B., GOFFEAU, A., & SAIER, M. H. (1998). Unified inventory of established and putative transporters encoded within the complete genome of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Letters*, 430(1-2), 116-125.
- PERILLO, G. M. (1995). Chapter 2 Definitions and Geomorphologic Classifications of Estuaries. *Developments in Sedimentology*, 53, 17-47.
- PETRIE, B., YODAN, J., BARDEN, R., & KASPRZYK-HORDERN, B. (2016). Multi-residue analysis of 90 emerging contaminants in liquid and solid environmental matrices by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*.
- PETROVSKI, S., RICE, D. T., BATINOVIC, S., NITTAMI, T., & SEVIOUR, R. J. (2020). The community compositions of three nitrogen removal wastewater treatment plants of different configurations in Victoria, Australia, over a 12-month operational period. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(22), 9839-9852.
- PETRUZZELLI, G., PEDRON, F., ROSELLINI, I., PETRUZZELLI, G., PEDRON, F., & ROSELLINI, I. (2020). Bioavailability and bioaccessibility in soil : a short review and a case study. *AIMS Environmental Science* 2020 2 :208, 7(2), 208-225.
- PHILIPPOT, L., GRIFFITHS, B. S., & LANGENHEDER, S. (2021). Microbial Community Resilience across Ecosystems and Multiple Disturbances. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 85(2), 1-24.
- PINTO, A. B., PAGNOCCA, F. C., PINHEIRO, M. A. A., FONTES, R. F. C., & de OLIVEIRA, A. J. F. C. (2015). Heavy metals and TPH effects on microbial abundance and diversity in two estuarine areas of the southern-central coast of São Paulo State, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 96(1-2), 410-417.
- PINTO, E., SIGAUD-KUTNER, T. C., LEITÃO, M. A., OKAMOTO, O. K., MORSE, D., & COLEPICOLA, P. (2003). Heavy metal-induced oxidative stress in algae. *Journal of Phycology*, 39, 1008-1018.
- POHLNER, M., DLUGOSCH, L., WEMHEUER, B., MILLS, H., ENGELEN, B., & REESE, B. K. (2019). The majority of active Rhodobacteraceae in marine sediments belong to uncultured genera : A molecular approach to link their distribution to environmental conditions. *Frontiers in Microbiology*, 10(APR), 659.

- POINT, D. (2004). *Spéciation et biogéochimie des éléments traces métalliques dans l'estuaire de l'Adour*. (PhD Thesis). Université de Pau et des Pays de l'Adour,
- POINT, D., BAREILLE, G., AMOUROUX, D., ETCHEBER, H., & DONARD, O. F. X. (2007). Reactivity, interactions and transport of trace elements, organic carbon and particulate material in a mountain range river system (Adour River, France). *Journal of Environmental Monitoring*, *9*(2), 157-167.
- POMEROY, L. R. (1974). The Ocean's Food Web, A Changing Paradigm. *BioScience*, *24*(9), 499-504.
- POMMIER, T., CANBÄCK, B., RIEMANN, L., BOSTRÖM, K. H., SIMU, K., LUNDBERG, P., TUNLID, A., & HAGSTRÖM, Å. (2007). Global patterns of diversity and community structure in marine bacterioplankton. *Molecular Ecology*, *16*(4), 867-880.
- POTTER, I. C., CHUWEN, B. M., HOEKSEMA, S. D., & ELLIOTT, M. (2010). The concept of an estuary : A definition that incorporates systems which can become closed to the ocean and hypersaline. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *87*(3), 497-500.
- POUWELS, K. B., FREEMAN, R., MULLER-PEBODY, B., ROONEY, G., HENDERSON, K. L., ROBOTHAM, J. V., & SMIESZEK, T. (2018). Association between use of different antibiotics and trimethoprim resistance : Going beyond the obvious crude association. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *73*(6), 1700-1707.
- PRADEL, N., JI, B., GIMENEZ, G., TALLA, E., LENOBLE, P., GAREL, M., TAMBURINI, C., FOURQUET, P., LEBRUN, R., BERTIN, P., DENIS, Y., POPHILLAT, M., BARBE, V., OLLIVIER, B., & DOLLA, A. (2013). The first genomic and proteomic characterization of a deep-sea sulfate reducer : insights into the piezophilic lifestyle of *Desulfovibrio piezophilus*. *PloS one*, *8*(1).
- PRINGAULT, O., DURAN, R., JACQUET, S., & TORRÉTON, J. P. (2008). Temporal variations of microbial activity and diversity in marine tropical sediments (New Caledonia Lagoon). *Microbial Ecology*, *55*(2), 247-258.
- PRINGAULT, O., VIRET, H., & DURAN, R. (2010). Influence of microorganisms on the removal of nickel in tropical marine sediments (New Caledonia). *Marine Pollution Bulletin*, *61*(7-12), 530-541.
- PRINGAULT, O., VIRET, H., & DURAN, R. (2012). Interactions between Zn and bacteria in marine tropical coastal sediments. *Environmental Science and Pollution Research*, *19*(3), 879-892.
- PRITCHARD, D. W. (1952). Estuarine Hydrography. *Advances in Geophysics*, *1*, 243-280.
- PRITCHARD, D. W. (1960). *Lectures on estuarine oceanography* (B. KINSMAN, Éd. ; J. Hopkins).
- PRITCHARD, D. W. (1967). What is an Estuary : Physical Viewpoint.
- QI, X. e., WANG, C., HE, T., DING, F., LI, A., ZHANG, X., AN, L., & XU, S. (2021). Changes in alpine grassland type drive niche differentiation of nitrifying communities on the Qinghai Tibetan Plateau. *European Journal of Soil Biology*, *104*, 103316.
- QUAST, C., PRUESSE, E., YILMAZ, P., GERKEN, J., SCHWEER, T., YARZA, P., PEPLIES, J., & GLÖCKNER, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project : Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, *41*(D1), D590-D596.
- QUERO, G. M., CASSIN, D., BOTTER, M., PERINI, L., & LUNA, G. M. (2015). Patterns of benthic bacterial diversity in coastal areas contaminated by heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs). *Frontiers in Microbiology*, *6*(1053).
- QUICK, J., QUINLAN, A. R., & LOMAN, N. J. (2014). A reference bacterial genome dataset generated on the MinION™ portable single-molecule nanopore sequencer. *GigaScience*, *3*(22), 1-6.

- QUINCE, C., LANZEN, A., DAVENPORT, R. J., & TURNBAUGH, P. J. (2011). Removing Noise From Pyrosequenced Amplicons. *BMC Bioinformatics*, 12(1), 38.
- R CORE TEAM. (2020). R : A Language and Environment for Statistical Computing. *R Foundation for Statistical Computing*.
- RAMOND, J. B., BERTHE, T., LAFITE, R., DELOFFRE, J., OUDDANE, B., & PETIT, F. (2008). Relationships between hydrosedimentary processes and occurrence of mercury-resistant bacteria (merA) in estuary mudflats (Seine, France). *Marine pollution bulletin*, 56(6), 1168-1176.
- RAMOS, S., HOMEM, V., ALVES, A., & SANTOS, L. (2015). Advances in analytical methods and occurrence of organic UV-filters in the environment - A review. *Science of the Total Environment*, 526, 278-311.
- RAPAPORT, R. A., & EISENREICH, S. J. (1984). Chromatographic Determination of Octanol-Water Partition Coefficients (Kow's) for 58 Polychlorinated Biphenyl Congeners. *Environmental Science and Technology*, 18(3), 163-170.
- RAPPÉ, M. S., & GIOVANNONI, S. J. (2003). The uncultured microbial majority. *Annual review of microbiology*, 57, 369-394.
- RAST, P., GLÖCKNER, I., BOEDEKER, C., JESKE, O., WIEGAND, S., REINHARDT, R., SCHUMANN, P., ROHDE, M., SPRING, S., GLÖCKNER, F. O., JOGLER, C., & JOGLER, M. (2017). Three novel species with peptidoglycan cell walls form the new genus *Lacunisphaera* gen. nov. in the family opitutaceae of the verrucomicrobial subdivision 4. *Frontiers in Microbiology*, 8(FEB), 1-18.
- RAVEN, J. A., EVANS, M. C., & KORB, R. E. (1999). The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O₂-evolving organisms.
- RECORD. (2012). *Biodisponibilité et Bioaccessibilité des polluants dans le cas des sols pollués, Etat des connaissances et pistes de recherche* (rapp. tech.).
- REMANE, A. (1934). Die Brackwasserfauna. *Verhandlungen Der Deutschen Zoologischen Gesellschaft*, 36, 34-74.
- RIECK, A., HERLEMANN, D. P. R., JÜRGENS, K., & GROSSART, H.-p. P. (2015). Particle-associated differ from free-living bacteria in surface waters of the baltic sea. *Frontiers in Microbiology*, 6(1297).
- RIEMANN, L., & WINDING, A. (2001). Community dynamics of free-living and particle-associated bacterial assemblages during a freshwater phytoplankton bloom. *Microbial Ecology*, 42(3), 274-285.
- RIGONATO, J., GAMA, W. A., ALVARENGA, D. O., BRANCO, L. H. Z., BRANDINI, F. P., GENUÁRIO, D. B., & FIORE, M. F. (2016). *Aliterella atlantica* gen. nov., sp. nov., and *Aliterella antarctica* sp. nov., novel members of coccoid Cyanobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(8), 2853-2861.
- RIMKUS, G. G., FROMME, H., OTTO, T., PILZ, K., RIMKUS, G. G., FROMME, H., OTTO, T., PILZ, K., RIMKUS, G. G., FROMME, H., OTTO, T., & PILZ, K. (1999). Polycyclic Musk Fragrances in the Aquatic Environment. *Toxicology Letters*, 111(1-2), 37-56.
- ROBERTO, A. A., VAN GRAY, J. B., & LEFF, L. G. (2018). Sediment bacteria in an urban stream : Spatiotemporal patterns in community composition. *Water Research*, 134, 353-369.
- ROBERTSON, C. E., HARRIS, J. K., SPEAR, J. R., & PACE, N. R. (2005). Phylogenetic diversity and ecology of environmental Archaea. *Current Opinion in Microbiology*, 8(6), 638-642.

- ROBINS, P. E., SKOV, M. W., LEWIS, M. J., GIMÉNEZ, L., DAVIES, A. G., MALHAM, S. K., NEILL, S. P., McDONALD, J. E., WHITTON, T. A., JACKSON, S. E., & JAGO, C. F. (2016). Impact of climate change on UK estuaries : A review of past trends and potential projections. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *169*, 119-135.
- RODIER, J. (1976). *L'analyse de l'eau. Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer.*
- RODRIGUEZ-MOZAZ, S., VAZ-MOREIRA, I., VARELA DELLA GIUSTINA, S., LLORCA, M., BARCELÓ, D., SCHUBERT, S., BERENDONK, T. U., MICHAEL-KORDATOU, I., FATTA-KASSINOS, D., MARTINEZ, J. L., ELPERS, C., HENRIQUES, I., JAEGER, T., SCHWARTZ, T., PAULSHUS, E., O'SULLIVAN, K., PÄRNÄNEN, K. M., VIRTA, M., DO, T. T., ... MANAIA, C. M. (2020). Antibiotic residues in final effluents of European wastewater treatment plants and their impact on the aquatic environment. *Environment International*, *140*, 105733.
- ROOSA, S., WATTIEZ, R., PRYGIEL, E., LESVEN, L., BILLON, G., & GILLAN, D. C. (2014). Bacterial metal resistance genes and metal bioavailability in contaminated sediments. *Environmental pollution*, *189*, 143-151.
- RÖSEL, S., & GROSSART, H. P. (2012). Contrasting dynamics in activity and community composition of free-living and particle-associated bacteria in spring. *Aquatic Microbial Ecology*, *66*, 169-181.
- SABER, D. L., & CRAWFORD, R. L. (1985). Isolation and characterization of Flavobacterium strains that degrade pentachlorophenol. *Applied and environmental microbiology*, *50*(6), 1512-1518.
- SAITOH, S., SUZUKI, T., & NISHIMURA, Y. (1998). Proposal of Craurococcus roseus gen. nov., sp. nov. and Para-craurococcus ruber gen. nov., sp. nov., novel aerobic bacteriochlorophyll a-containing bacteria from soil. *International Journal of Systematic Bacteriology*, *48*(3), 1043-1047.
- SANGER, F., NICKLEN, S., & COULSON, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *74*(12), 5463-5467.
- SCANLAN, D. J., & WEST, N. J. (2002). Molecular ecology of the marine cyanobacterial genera Prochlorococcus and Synechococcus. *FEMS Microbiology Ecology*, *40*(1), 1-12.
- SCHADT, E. E., TURNER, S., & KASARSKIS, A. (2010). A window into third-generation sequencing. *Human Molecular Genetics*, *19*(R2), R227-R240.
- SCHINK, B., & PFENNIG, N. (1982). Propionigenium modestum gen. nov. sp. nov. a new strictly anaerobic, nonsporing bacterium growing on succinate. *Archives of Microbiology*, *133*(3), 209-216.
- SCHRAMM, K. W., KAUNE, A., BECK, B., THUMM, W., BEHECHTI, A., KETTRUP, A., & NICKOLOVA, P. (1996). Acute toxicities of five nitromusk compounds in Daphnia, algae and photoluminescent bacteria. *Water Research*, *30*(10), 2247-2250.
- SCHULZ, J., KEMPER, N., HARTUNG, J., JANUSCH, F., MOHRING, S. A., & HAMSCHER, G. (2019). Analysis of fluoroquinolones in dusts from intensive livestock farming and the co-occurrence of fluoroquinolone-resistant Escherichia coli. *Scientific Reports*, *9*(5117), 1-7.
- SCHUMANN, P., & PUKALL, R. (2017). Leucobacter weissii sp. Nov., an isolate from activated sludge once described as first representative of the peptidoglycan variation B2 δ , and emended description of the genus leucobacter. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *67*(12), 5244-52351.
- SCHUSTER, S. C. (2008). Next-generation sequencing transforms today's biology. *Nature Methods*, *5*(1), 16-18.
- SEMPLE, K. T., DOICK, K. J., JONES, K. C., BURAUDEL, P., CRAVEN, A., & HARMS, H. (2004). Defining Bioavailability and Bioaccessibility of Contaminated Soil and Sediment is Complicated. *Environmental Science and Technology*, *38*(12), 228-231.

- SERAFIM, A., COMPANY, R., LOPES, B., PEREIRA, C., CRAVO, A., FONSECA, V. F., FRANÇA, S., BEBIANNO, M. J., & CABRAL, H. N. (2013). Evaluation of sediment toxicity in different Portuguese estuaries : Ecological impact of metals and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *130*, 30-41.
- SHADE, A., PETER, H., ALLISON, S. D., BAHU, D. L., BERGA, M., BÜRGMANN, H., HUBER, D. H., LANGENHEDER, S., LENNON, J. T., MARTINY, J. B., MATULICH, K. L., SCHMIDT, T. M., & HANDELSMAN, J. (2012). Fundamentals of microbial community resistance and resilience. *Frontiers in Microbiology*, *3*, 417.
- SHAH, S. Q., CABELLO, F. C., L'ABÉE-LUND, T. M., TOMOVA, A., GODFREY, H. P., BUSCHMANN, A. H., & SØRUM, H. (2014). Antimicrobial resistance and antimicrobial resistance genes in marine bacteria from salmon aquaculture and non-aquaculture sites. *Environmental Microbiology*, *16*(5), 1310-1320.
- SHANKS, O. C., NEWTON, R. J., KELTY, C. A., HUSE, S. M., SOGIN, M. L., & MCLELLAN, S. L. (2013). Comparison of the Microbial Community Structures of Untreated Wastewaters from Different Geographic Locales. *Applied and Environmental Microbiology*, *79*(9), 2906.
- SHANNON, C. E. (1948). A Mathematical Theory of Communication. *Bell System Technical Journal*, *27*(3), 379-423.
- SHANNON, P., MARKIEL, A., OZIER, O., BALIGA, N. S., WANG, J. T., RAMAGE, D., AMIN, N., SCHWIKOWSKI, B., & IDEKER, T. (2003). Cytoscape : A software Environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research*, *13*(11), 2498-2504.
- SHAREEF, A., ANGOVE, M. J., & WELLS, J. D. (2006). Optimization of silylation using N-methyl-N-(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide, N,O-bis-(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide and N-(tert-butyl-dimethylsilyl)-N-methyltrifluoroacetamide for the determination of the estrogens estrone and 17 α -ethinylestra. *Journal of chromatography. A*, *1108*, 121-128.
- SHARIFAN, H., KLEIN, D., & MORSE, A. N. (2016). UV filters are an environmental threat in the Gulf of Mexico : a case study of Texas coastal zones. *Oceanologia*, *58*(4), 327-335.
- SHARP, J. H., CIFUENTES, L. A., COFFIN, R. B., PENNOCK, J. R., & WONG, K. C. (1986). The influence of river variability on the circulation, chemistry, and microbiology of the Delaware Estuary. *Estuaries*, *9*(4), 261-269.
- SHAW, G. T. W., LIU, A. C., WENG, C. Y., CHEN, Y. C., CHEN, C. Y., WENG, F. C. H., WANG, D., & CHOU, C. Y. (2020). A network-based approach to deciphering a dynamic microbiome's response to a subtle perturbation. *Scientific Reports*, *10*(19530), 1-16.
- SHCHEGOLKOVA, N. M., KRASNOV, G. S., BELOVA, A. A., DMITRIEV, A. A., KHARITONOV, S. L., KLIMINA, K. M., MELNIKOVA, N. V., & KUDRYAVTSEVA, A. V. (2016). Microbial Community Structure of Activated Sludge in Treatment Plants with Different Wastewater Compositions. *Frontiers in Microbiology*, *7*(90), 1-15.
- SHE, C. X., ZHANG, Z. C., CADILLO-QUIROZ, H., & TONG, C. (2016). Factors regulating community composition of methanogens and sulfate-reducing bacteria in brackish marsh sediments in the Min River estuary, southeastern China. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *181*, 27-38.
- SHENDURE, J., BALASUBRAMANIAN, S., CHURCH, G. M., GILBERT, W., ROGERS, J., SCHLOSS, J. A., & WATERSTON, R. H. (2017). DNA sequencing at 40 : past, present and future. *Nature*, *550*, 345-353.
- SHI, H., YANG, Y., LIU, M., YAN, C., YUE, H., & ZHOU, J. (2014). Occurrence and distribution of antibiotics in the surface sediments of the Yangtze Estuary and nearby coastal areas. *Marine Pollution Bulletin*.

- SHI, Z., YIN, H., VAN NOSTRAND, J. D., VOORDECKERS, J. W., TU, Q., DENG, Y., YUAN, M., ZHOU, A., ZHANG, P., XIAO, N., NING, D., HE, Z., WU, L., & ZHOU, J. (2019). Functional Gene Array-Based Ultrasensitive and Quantitative Detection of Microbial Populations in Complex Communities. *mSystems*.
- SHINODA, Y., SAKAI, Y., UENISHI, H., UCHIHASHI, Y., HIRAISHI, A., YUKAWA, H., YURIMOTO, H., & KATO, N. (2004). Aerobic and Anaerobic Toluene Degradation by a Newly Isolated Denitrifying Bacterium, *Thauera* sp. Strain DNT-1. *Applied and Environmental Microbiology*, *70*(3), 1385.
- SIBLY, R. M., & CALOW, P. (1989). A life-cycle theory of responses to stress. *Biological Journal of the Linnean Society*, *37*(1-2), 101-116.
- SIEDLEWICZ, G., BORECKA, M., BIAŁK-BIELIŃSKA, A., SIKORA, K., STEPNOWSKI, P., & PAZDRO, K. (2016). Determination of antibiotic residues in southern Baltic Sea sediments using tandem solid-phase extraction and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Oceanologia*, *58*(3), 221-234.
- SILVESTRI, E. E., YUND, C., TAFT, S., BOWLING, C. Y., CHAPPIE, D., GARRAHAN, K., BRADY-ROBERTS, E., STONE, H., & NICHOLS, T. L. (2017). Considerations for estimating microbial environmental data concentrations collected from a field setting. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, *27*, 141-151.
- SIMON, H. M., SMITH, M. W., & HERFORT, L. (2014). Metagenomic insights into particles and their associated microbiota in a coastal margin ecosystem. *Frontiers in Microbiology*, *5*(466).
- SIMPSON, C. D., WILCOCK, R. J., SMITH, T. J., WILKINS, A. L., & LANGDON, A. G. (1995). Determination of octanol-water partition coefficients for the major components of technical chlordane. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *55*(1), 149-153.
- SIMPSON, E. H. (1949). Measurement of diversity. *Nature*, *163*(4148), 688.
- SKARLATO, S. O., & TELESH, I. V. (2017). The development of the protistan species-maximum concept for the critical salinity zone. *Russian Journal of Marine Biology*, *43*, 1-11.
- SMITH, J. M., & MATHER, M. E. (2012). Using assemblage data in ecological indicators : A comparison and evaluation of commonly available statistical tools. *Ecological Indicators*, *13*, 253-262.
- SMITH, M. W., ALLEN, L. Z., ALLEN, A. E., HERFORT, L., & SIMON, H. M. (2013). Contrasting genomic properties of free-living and particle-attached microbial assemblages within a coastal ecosystem. *Frontiers in Microbiology*, *4*(120).
- SONG, M., LUO, C., JIANG, L., ZHANG, D., WANG, Y., & ZHANG, G. (2015). Identification of Benzo[a]pyrene-metabolizing bacteria in forest soils by using DNA-based stable-isotope probing. *Applied and Environmental Microbiology*, *81*(21), 7368-7376.
- SORGEN, A., JOHNSON, J., LAMBIRTH, K., CLINTON, S. M., REDMOND, M., FODOR, A., & GIBAS, C. (2021). Characterization of environmental and cultivable antibiotic-resistant microbial communities associated with wastewater treatment. *Antibiotics*, *10*(4), 352.
- SPAIN, A. M., KRUMHOLZ, L. R., & ELSHAHED, M. S. (2009). Abundance, composition, diversity and novelty of soil Proteobacteria. *ISME Journal*, *3*(8), 992-1000.
- SRIVASTAVA, N., GUPTA, B., GUPTA, S., DANQUAH, M. K., & SARETHY, I. P. (2019). Analyzing Functional Microbial Diversity : An Overview of Techniques. In *Microbial Diversity in the Genomic Era* (p. 79-102). Academic Press.

- ST. JOHN, E., FLORES, G. E., MENEGHIN, J., & REYSENBACH, A. L. (2019). Deep-sea hydrothermal vent metagenome-assembled genomes provide insight into the phylum Nanoarchaeota. *Environmental Microbiology Reports*, 11(2), 262-270.
- STALEY, J. (1985). Measurement of In Situ Activities of Nonphotosynthetic Microorganisms in Aquatic and Terrestrial Habitats. *Annual Review of Microbiology*, 39, 321-346.
- STEIN, E. D., COHEN, Y., & WINER, A. M. (1996). Environmental distribution and transformation of mercury compounds. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 26, 1-43.
- STEIN, L. Y., LA DUC, M. T., GRUND, T. J., & NEALSON, K. H. (2001). Bacterial and archaeal populations associated with freshwater ferromanganous micronodules and sediments. *Environmental Microbiology*, 3(1), 10-18.
- STEINER, P. A., GELJO, J., FADEEV, E., OBIOL, A., SINTES, E., RATTEI, T., & HERNDL, G. J. (2020). Functional Seasonality of Free-Living and Particle-Associated Prokaryotic Communities in the Coastal Adriatic Sea. *Frontiers in Microbiology*, 11(584222), 1-19.
- STINGL, U., DESIDERIO, R. A., CHO, J. C., VERGIN, K. L., & GIOVANNONI, S. J. (2007). The SAR92 clade : An abundant coastal clade of culturable marine bacteria possessing proteorhodopsin. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(7), 2290-2296.
- STOICHEV, T., AMOUROUX, D., WASSERMAN, J. C., POINT, D., DE DIEGO, A., BAREILLE, G., & DONARD, O. F. (2004). Dynamics of mercury species in surface sediments of a macrotidal estuarine-coastal system (Adour River, Bay of Biscay). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 59(3), 511-521.
- STOICHEV, T., AMOUROUX, D., MONPERRUS, M., POINT, D., TESSIER, E., BAREILLE, G., DONARD, F. X., & DONARD, O. F. (2006). Mercury in surface waters of a macrotidal urban estuary (River Adour, southwest France). *Chemistry and Ecology*, 22(2), 137-148.
- STRICKLAND, J. D. H., & PARSONS, T. R. (1972). *A practical handbook for seawater analysis. Second Edition.*
- STROUD, J. L., LOW, A., COLLINS, R. N., & MANEFIELD, M. (2014). Metal(loid) bioaccessibility dictates microbial community composition in acid sulfate soil horizons and sulfidic drain sediments. *Environmental Science and Technology*, 48(15), 8514-8521.
- SU, X. L., TIAN, Q., ZHANG, J., YUAN, X. Z., SHI, X. S., GUO, R. B., & QIU, Y. L. (2014). Acetobacteroides hydrogenigenes gen. nov., Sp. nov., An anaerobic hydrogen-producing bacterium in the family Rikenellaceae isolated from a reed swamp. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(Pt_9), 2986-2991.
- SUHADOLNIK, M. L., SALGADO, A. P., SCHOLTE, L. L., BLEICHER, L., COSTA, P. S., REIS, M. P., DIAS, M. F., ÁVILA, M. P., BARBOSA, F. A., CHARTONE-SOUZA, E., & NASCIMENTO, A. M. (2017). Novel arsenic-transforming bacteria and the diversity of their arsenic-related genes and enzymes arising from arsenic-polluted freshwater sediment. *Scientific Reports*, 7(1), 1-17.
- SUMNER, N. R., GUITART, C., FUENTES, G., & READMAN, J. W. (2010). Inputs and distributions of synthetic musk fragrances in an estuarine and coastal environment ; a case study. *Environmental Pollution*, 158(1), 215-222.
- SUN, F., XU, Z., & FAN, L. (2021). Response of heavy metal and antibiotic resistance genes and related microorganisms to different heavy metals in activated sludge. *Journal of Environmental Management*, 300(113754).

- SUN, M. Y., DAFFORN, K. A., BROWN, M. V., & JOHNSTON, E. L. (2012). Bacterial communities are sensitive indicators of contaminant stress. *Marine Pollution Bulletin*, 64(5), 1029-1038.
- SUN, M. Y., DAFFORN, K. A., JOHNSTON, E. L., & BROWN, M. V. (2013). Core sediment bacteria drive community response to anthropogenic contamination over multiple environmental gradients. *Environmental Microbiology*, 15(9), 2517-2531.
- SUN, Y., WANG, T., PENG, X., WANG, P., & LU, Y. (2016). Bacterial community compositions in sediment polluted by perfluoroalkyl acids (PFAAs) using Illumina high-throughput sequencing. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(11), 10556-10565.
- SUNAGAWA, S., COELHO, L. P., CHAFFRON, S., KULTIMA, J. R., LABADIE, K., SALAZAR, G., DJAHANSCHIRI, B., ZELLER, G., MENDE, D. R., ALBERTI, A., CORNEJO-CASTILLO, F. M., COSTEA, P. I., CRUAUD, C., D'OVIDIO, F., ENGELEN, S., FERRERA, I., GASOL, J. M., GUIDI, L., HILDEBRAND, F., ... BORK, P. (2015). Structure and function of the global ocean microbiome. *Science*, 348(6237).
- SUTTLE, C. A. (2007). Marine viruses - Major players in the global ecosystem. *Nature Reviews Microbiology*, 5(10), 801-812.
- SVINGEN, T., & VINGGAARD, A. M. (2016). The risk of chemical cocktail effects and how to deal with the issue. *Journal of epidemiology and community health*, 70(4), 322-323.
- SYROVA, E., KOHOUTOVA, L., DOLEJSKA, M., PAPEZIKOVA, I., KUTILOVA, I., CIZEK, A., NAVRATIL, S., MINAROVA, H., & PALIKOVA, M. (2018). Antibiotic resistance and virulence factors in mesophilic *Aeromonas* spp. from Czech carp fisheries. *Journal of Applied Microbiology*, 125(6), 1702-1713.
- SZABÓ, E., LIÉBANA, R., HERMANSSON, M., MODIN, O., PERSSON, F., & WILÉN, B. M. (2017). Microbial population dynamics and ecosystem functions of anoxic/aerobic granular sludge in sequencing batch reactors operated at different organic loading rates. *Frontiers in Microbiology*, 8(MAY).
- TAKÁCS-NOVÁK, K., JÓZAN, M., HERMECZ, I., & SZÁSZ, G. (1992). Lipophilicity of antibacterial fluoroquinolones. *International Journal of Pharmaceutics*, 79, 89-96.
- TAKÁCS-NOVÁK, K., JÓZAN, M., & SZÁSZ, G. (1995). Lipophilicity of amphoteric molecules expressed by the true partition coefficient. *International Journal of Pharmaceutics*, 113(1), 47-55.
- TALESKI, V., DIMKIC, I., BOEV, B., BOEV, I., ŽIVKOVI, S., & STANKOVI, S. (2020). Bacterial and fungal diversity in the lorandite (TlAs₂) mine 'Allchar' in the Republic of North Macedonia. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(9).
- TAMPUCCI, S., BURGALASSI, S., CHETONI, P., & MONTI, D. (2018). Cutaneous permeation and penetration of sunscreens : Formulation strategies and in vitro methods. *Cosmetics*, 5(1).
- TANG, X., CHAO, J., GONG, Y., WANG, Y., WILHELM, S. W., & GAO, G. (2017). Spatiotemporal dynamics of bacterial community composition in large shallow eutrophic Lake Taihu : High overlap between free-living and particle-attached assemblages. *Limnology and Oceanography*, 62, 1366-1382.
- TELESH, I. V., SCHUBERT, H., & SKARLATO, S. (2013). Life in the salinity gradient : Discovering mechanisms behind a new biodiversity pattern. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 135, 317-327.
- TELESH, I. V., SCHUBERT, H., & SKARLATO, S. O. (2011). Revisiting Remane's concept : Evidence for high plankton diversity and a protistan species maximum in the horohalinicum of the Baltic Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 421, 1-11.

- TESSIER, A., & CAMPBELL, P. G. (1987). Partitioning of trace metals in sediments : Relationships with bioavailability. *Hydrobiologia*, 149, 43-52.
- The Venice System for the Classification of Marine Waters According to Salinity. (1958).
- TOGOLA, A. (2006). *Présence et devenir des substances pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques*. (Spécialité : Biogéochimie de l'environnement). Université de Bordeaux 1.
- TOMLIN, C. (1994). *The Pesticide manual : a world compendium : incorporating the agrochemicals handbook*. (10th ed.). British Crop Protection Council, Royal Society of Chemistry Information Sciences.
- TRAN, J. H., & JACOBY, G. A. (2002). Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(8), 5638-5642.
- TROJAN, D., SCHREIBER, L., BJERG, J. T., BØGGILD, A., YANG, T., KJELDSSEN, K. U., & SCHRAMM, A. (2016). A taxonomic framework for cable bacteria and proposal of the candidate genera *Electrothrix* and *Electronema*. *Systematic and Applied Microbiology*, 39(5), 297-306.
- TROUSSELLIER, M., SCHÄFER, H., BATAILLER, N., BERNARD, L., COURTIES, C., LEBARON, P., MUYZER, G., SERVAIS, P., & VIVES-REGO, J. (2002). Bacterial activity and genetic richness along an estuarine gradient (Rhône River plume, France). *Aquatic Microbial Ecology*, 28(1), 13-24.
- TROWBIDGE, A. G., & SWACKHAMER, D. L. (2001). Biomagnification of toxic PCB congeners in the Lake Michigan foodweb. *ACS Symposium Series*, 772, 266-283.
- TSUI, M. M., LEUNG, H. W., LAM, P. K., & MURPHY, M. B. (2014). Seasonal occurrence, removal efficiencies and preliminary risk assessment of multiple classes of organic UV filters in wastewater treatment plants. *Water Research*, 53, 58-67.
- TU, Q., YU, H., HE, Z., DENG, Y., WU, L., VAN NOSTRAND, J. D., ZHOU, A., VOORDECKERS, J., LEE, Y. J., QIN, Y., HEMME, C. L., SHI, Z., XUE, K., YUAN, T., WANG, A., & ZHOU, J. (2014). GeoChip 4 : A functional gene-array-based high-throughput environmental technology for microbial community analysis. *Molecular Ecology Resources*, 14(5), 914-928.
- TURNER, A., & MILLWARD, G. E. (2002). Suspended particles : Their role in Estuarine biogeochemical cycles. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 55(6), 857-883.
- UNITED NATIONS. (2016). *The World's Cities in 2016 : Data Booklet*.
- VAGGE, G., CUTRONEO, L., CASTELLANO, M., CANEPA, G., BERTOLOTTO, R. M., & CAPELLO, M. (2018). The effects of dredging and environmental conditions on concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons in the water column. *Marine pollution bulletin*, 135, 704-713.
- VALLE-LEVINSON, A. (2010). Definition and classification of estuaries. In *Contemporary Issues in Estuarine Physics* (p. 1-11). Cambridge University Press.
- VAN DER MAAREL, E. (1990). Ecotones and ecoclines are different. *Journal of Vegetation Science*, 1(1), 135-138.
- VANE, C. H., LOPES DOS SANTOS, R. A., KIM, A. W., MOSS-HAYES, V., FORDYCE, F. M., & BEARCOCK, J. M. (2017). Persistent organic pollutants (PAH, PCB, TPH) in freshwater, urban tributary and estuarine surface sediments of the River Clyde, Scotland, UK. *Earth and Environmental Science Transactions of The Royal Society of Edinburgh*, 108(2-3), 299-313.
- VANHAECKE, F., VANHOE, H., DAMS, R., & VANDECASTEELE, C. (1992). The use of internal standards in ICP-MS. *Talanta*, 39(7), 737-742.

- VAZ-MOREIRA, I., NUNES, O. C., & MANAIA, C. M. (2011). Diversity and antibiotic resistance patterns of Sphingomonadaceae isolates from drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(16), 5697-5706.
- VENTER, J. C., REMINGTON, K., HEIDELBERG, J. F., HALPERN, A. L., RUSCH, D., EISEN, J. A., WU, D., PAULSEN, I., NELSON, K. E., NELSON, W., FOUTS, D. E., LEVY, S., KNAP, A. H., LOMAS, M. W., NEALSON, K., WHITE, O., PETERSON, J., HOFFMAN, J., PARSONS, R., ... SMITH, H. O. (2004). Environmental Genome Shotgun Sequencing of the Sargasso Sea. *Science*, 304(5667), 66-74.
- VERCRAENE-EAIRMAL, M., LAUGA, B., SAINT LAURENT, S., MAZZELLA, N., BOUTRY, S., SIMON, M., KARAMA, S., DELMAS, F., & DURAN, R. (2010). Diuron biotransformation and its effects on biofilm bacterial community structure. *Chemosphere*, 81(7), 837-843.
- VERGARA, E. G., HERNÁNDEZ, V., MUNKITTRICK, K. R., BARRA, R., GALBAN-MALAGON, C., & CHIANG, G. (2019). Presence of organochlorine pollutants in fat and scats of pinnipeds from the Antarctic Peninsula and South Shetland Islands, and their relationship to trophic position. *Science of the Total Environment*, 685, 1276-1283.
- VICENTE-MARTEORELL, J. J., GALINDO-RIAÑO, M. D., GARCÍA-VARGAS, M., & GRANADO-CASTRO, M. D. (2009). Bioavailability of heavy metals monitoring water, sediments and fish species from a polluted estuary. *Journal of Hazardous Materials*, 162(2-3), 823-836.
- VIDAL-DURÀ, A., BURKE, I. T., MORTIMER, R. J., & STEWART, D. I. (2018). Diversity patterns of benthic bacterial communities along the salinity continuum of the Humber estuary (UK). *Aquatic Microbial Ecology*, 81(3), 277-291.
- WAITE, D. W., CHUVOCHINA, M., PELIKAN, C., PARKS, D. H., YILMAZ, P., WAGNER, M., LOY, A., NAGANUMA, T., NAKAI, R., WHITMAN, W. B., HAHN, M. W., KUEVER, J., & HUGENHOLTZ, P. (2020). Proposal to reclassify the proteobacterial classes Deltaproteobacteria and Oligoflexia, and the phylum Thermodesulfobacteria into four phyla reflecting major functional capabilities. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(11), 5972-6016.
- WAN, X., GAO, Q., ZHAO, J., FENG, J., van NOSTRAND, J. D., YANG, Y., & ZHOU, J. (2020). Biogeographic patterns of microbial association networks in paddy soil within Eastern China. *Soil Biology and Biochemistry*, 142, 107696.
- WANG, F., YAO, J., SI, Y., CHEN, H., RUSSEL, M., CHEN, K., QIAN, Y., ZARAY, G., & BRAMANTI, E. (2010). Short-time effect of heavy metals upon microbial community activity. *Journal of Hazardous Materials*.
- WANG, F., DONG, W., ZHAO, Z., WANG, H., LI, W., CHEN, G., WANG, F., ZHAO, Y., HUANG, J., & ZHOU, T. (2021a). Heavy metal pollution in urban river sediment of different urban functional areas and its influence on microbial community structure. *Science of the Total Environment*, 778(146383).
- WANG, H., BIER, R., ZGLESZEWSKI, L., PEIPOCH, M., OMONDI, E., MUKHERJEE, A., CHEN, F., ZHANG, C., & KAN, J. (2020a). Distinct Distribution of Archaea From Soil to Freshwater to Estuary : Implications of Archaeal Composition and Function in Different Environments. *Frontiers in Microbiology*, 11(576661), 1-18.
- WANG, L., WANG, C., XU, O., & TIAN, L. (1986). Determination of the n-octanol/water partition coefficients of polycyclic aromatic hydrocarbons and estimation of their aqueous solubilities. *Huanjing Kexue Xuebao*, 6(4), 491-497.

- WANG, L., LIU, L., ZHENG, B., ZHU, Y., & WANG, X. (2013). Analysis of the bacterial community in the two typical intertidal sediments of Bohai Bay, China by pyrosequencing. *Marine Pollution Bulletin*, 72(1), 181-187.
- WANG, M., SHA, C., WU, J., SU, J., WU, J., WANG, Q., TAN, J., & HUANG, S. (2021b). Bacterial community response to petroleum contamination in brackish tidal marsh sediments in the Yangtze River Estuary, China. *Journal of Environmental Sciences*, 99, 160-167.
- WANG, X., LU, L., ZHOU, X., TANG, X., KUANG, L., CHEN, J., SHAN, J., LU, H., QIN, H., ADAMS, J., & WANG, B. (2021c). Niche Differentiation of Comammox Nitrospira in the Mudflat and Reclaimed Agricultural Soils Along the North Branch of Yangtze River Estuary. *Frontiers in Microbiology*, 11.
- WANG, Z., WALKER, G. W., MUIR, D. C., & NAGATANI-YOSHIDA, K. (2020b). Toward a Global Understanding of Chemical Pollution : A First Comprehensive Analysis of National and Regional Chemical Inventories. *Environmental Science and Technology*, 54(5), 2575-2584.
- WATSON, S. J., CADE-MENUN, B. J., NEEDOBA, J. A., & PETERSON, T. D. (2018). Phosphorus forms in sediments of a river-dominated estuary. *Frontiers in Marine Science*, 5(302).
- WEBSTER, G., O'SULLIVAN, L. A., MENG, Y., WILLIAMS, A. S., SASS, A. M., WATKINS, A. J., PARKES, R. J., & WEIGHTMAN, A. J. (2015). Archaeal community diversity and abundance changes along a natural salinity gradient in estuarine sediments. *FEMS Microbiology Ecology*, 91(2), 1-18.
- WEI, G., LI, M., LI, F., LI, H., & GAO, Z. (2016). Distinct distribution patterns of prokaryotes between sediment and water in the Yellow River estuary. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(22), 9683-9697.
- WEIL, L., DURÉ, G., & QUENTIN, K. E. (1974). Wasserlöslichkeit von insektiziden chlorierten kohlenwasserstoffen und polychlorierten biphenylen im hinblick auf eine Gewässerbelastung mit diesen stoffen. *Zeitschrift für Wasser und Abwasser Forschung*, 7, 169-175.
- WEILAND-BRÄUER, N., FISCHER, M. A., SCHRAMM, K.-W., & SCHMITZ, R. A. (2017). Polychlorinated Biphenyl (PCB)-Degrading Potential of Microbes Present in a Cryoconite of Jamtalferner Glacier. *Frontiers in Microbiology*, (JUN), 1105.
- WEN, K., ZHOU, A., ZHANG, J., LIU, Z., WANG, G., LIU, W., WANG, A., & YUE, X. (2017). Characterization of biocarbon-source recovery and microbial community shifts from waste activated sludge by conditioning with cornstover : Assessment of cellulosic compositions. *Scientific Reports*, 7(1), 1-11.
- WHITFIELD, A. K., ELLIOTT, M., BASSET, A., BLABER, S. J., & WEST, R. J. (2012). Paradigms in estuarine ecology - A review of the Remane diagram with a suggested revised model for estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 97, 78-90.
- WHITMAN, W. B., COLEMAN, D. C., & WIEBE, W. J. (1998). Prokaryotes : The unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(12), 6578-6583.
- WHITMAN, W. B., OREN, A., CHUVOCHINA, M., da COSTA, M. S., GARRITY, G. M., RAINEY, F. A., ROSSELLO-MORA, R., SCHINK, B., SUTCLIFFE, I., TRUJILLO, M. E., & VENTURA, S. (2018). Proposal of the suffix -ota to denote phyla. Addendum to 'proposal to include the rank of phylum in the international code of nomenclature of prokaryotes'. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(3), 967-969.
- WIDDOWS, J. (1978). Physiological indices of stress in mytilus edulis. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 58, 125-142.

- WILLEMS, A., BUSSE, J., GOOR, M., POT, B., FALSEN, E., JANTZEN, E., HOSTE, B., GILLIS, M., KERSTERS, K., AULING, G., & DE LEY, J. (1989). Hydrogenophaga, a new genus of hydrogen-oxidizing bacteria that includes *Hydrogenophaga flava* comb. nov., *Hydrogenophaga palleronii*, *Hydrogenophaga pseudoflava* and *Hydrogenophaga taeniospiralis*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 39(3), 319-333.
- WILLEMS, A. (2014). The family Comamonadaceae. In E. ROSENBERG, E. F. DELONG, S. LORY, E. STACKEBRANDT & F. THOMPSON (Éd.), *The Prokaryotes : Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria* (p. 777-851). Springer Berlin Heidelberg.
- WILLIAMS, D. T., & BENOIT, F. M. (1979). The determination of polychlorinated biphenyls in selected household products. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 21, 179-184.
- WILLIAMS, R. J., HOWE, A., & HOFMOCKEL, K. S. (2014). Demonstrating microbial co-occurrence pattern analyses within and between ecosystems. *Frontiers in Microbiology*, 5(JULY), 358.
- WILLIS, A. (2019). Rarefaction, alpha diversity, and statistics. *Frontiers in Microbiology*, 10(2407).
- WISE, S. A., BONNETT, W. J., GUENTHER, F. R., & MAY, W. E. (1981). A relationship between reversed-phase C18 liquid chromatographic retention and the shape of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Chromatographic Science*, 19(9), 457-465.
- WOESE, C. R., & FOX, G. E. (1977). Phylogenetic structure of the prokaryotic domain : The primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(11), 5088-5090.
- WRIGHT, E. S. (2016). Using DECIPHER v2.0 to analyze big biological sequence data in R. *The R Journal*, 8(1), 352-359.
- WUTHIEKANUN, V., AMORNCHAI, P., LANGLA, S., WHITE, N. J., DAY, N. P., LIMMATHUROTSAKUL, D., & PEACOCK, S. J. (2015). Antimicrobial disk susceptibility testing of leptospira spp. using leptospira vanaporn wuthiekanun (LVW) agar. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 93(2), 241-243.
- XIA, N., XIA, X., ZHU, B., ZHENG, S., & ZHUANG, J. (2013). Bacterial diversity and community structure in the sediment of the middle and lower reaches of the Yellow River, the largest turbid river in the world. *Aquatic Microbial Ecology*, 71, 43-55.
- XIANG, X., WANG, R., WANG, H., GONG, L., MAN, B., & XU, Y. (2017). Distribution of Bathyarchaeota Communities Across Different Terrestrial Settings and Their Potential Ecological Functions. *Scientific Reports*, 7(45028), 1-11.
- XIE, W., ZHANG, C., ZHOU, X., & WANG, P. (2014). Salinity-dominated change in community structure and ecological function of Archaea from the lower Pearl River to coastal South China Sea. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(18), 7971-7982.
- XIE, Y., WANG, J., WU, Y., REN, C., SONG, C., YANG, J., YU, H., GIESY, J. P., & ZHANG, X. (2016). Using in situ bacterial communities to monitor contaminants in river sediments. *Environmental Pollution*, 212, 348-357.
- XIONG, W., SUN, Y., DING, X., WANG, M., & ZENG, Z. (2015). Selective pressure of antibiotics on ARGs and bacterial communities in manure-polluted freshwater-sediment microcosms. *Frontiers in Microbiology*, 6(MAR), 194.
- XU, H., ZHAO, D., HUANG, R., CAO, X., ZENG, J., YU, Z., HOOKER, K. V., HAMBRIGHT, K. D., & WU, Q. L. (2018). Contrasting Network Features between Free-Living and Particle-Attached Bacterial Communities in Taihu Lake. *Microbial Ecology* 2018 76 :2, 76(2), 303-313.

- XU, R., SUN, X., HAN, F., LI, B., XIAO, E., XIAO, T., YANG, Z., & SUN, W. (2020). Impacts of antimony and arsenic co-contamination on the river sedimentary microbial community in an antimony-contaminated river. *Science of the Total Environment*, 713.
- XU, T., PERRY, N., CHUAHAN, A., SAYLER, G., & RIPP, S. (2014). Microbial Indicators for Monitoring Pollution and Bioremediation. In S. DAS (Éd.), *Microbial Biodegradation and Bioremediation* (p. 115-136). Elsevier Inc.
- YALKOWSKY, S. H., & HE, Y. (2003). *Handbook of aqueous solubility data : An Extensive Compilation of Aqueous Solubility Data for Organic Compounds Extracted from the AQUASOL dATABaSE* (1st). CRC Press.
- YAMAGUCHI, T., MAHMOOD, A., ITO, T., & KATAOKA, R. (2021). Non-target Impact of Dinotefuran and Azoxystrobin on Soil Bacterial Community and Nitrification. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 106(6), 996-1002.
- YAN, Y. W., JIANG, Q. Y., WANG, J. G., ZHU, T., ZOU, B., QIU, Q. F., & QUAN, Z. X. (2018). Microbial communities and diversities in mudflat sediments analyzed using a modified metatranscriptomic method. *Frontiers in Microbiology*, 9(JAN).
- YI, H., OH, H.-M., LEE, J.-H., KIM, S.-J., & CHUN, J. (2005). Flavobacterium antarcticum sp. nov., a novel psychrotolerant bacterium isolated from the Antarctic. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55, 637-641.
- YI, J., LO, L. S. H., & CHENG, J. (2020). Dynamics of Microbial Community Structure and Ecological Functions in Estuarine Intertidal Sediments. *Frontiers in Marine Science*, 7(585970), 1-15.
- YIN, H., NIU, J., REN, Y., CONG, J., ZHANG, X. X., FAN, F., XIAO, Y., ZHANG, X. X., DENG, J., XIE, M., HE, Z., ZHOU, J., LIANG, Y., & LIU, X. (2015). An integrated insight into the response of sedimentary microbial communities to heavy metal contamination. *Scientific Reports*, 5(14266), 1-12.
- YING, G.-G., WILLIAMS, B., & KOOKANA, R. (2002). Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates—a review. *Environment International*, 28(3), 215-226.
- YUNG, C. M., WARD, C. S., DAVIS, K. M., JOHNSON, Z. I., & HUNT, D. E. (2016). Insensitivity of diverse and temporally variable particle-associated microbial communities to bulk seawater environmental parameters. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(11), 3431-3437.
- ZGHEIB, S., MOILLERON, R., SAAD, M., & CHEBBO, G. (2011). Partition of pollution between dissolved and particulate phases : what about emerging substances in urban stormwater catchments? *Water research*, 45, 913-925.
- ZHANG, W., BOUGOUFFA, S., WANG, Y., LEE, O. O., YANG, J., CHAN, C., SONG, X., & QIAN, P.-Y. (2014). Toward Understanding the Dynamics of Microbial Communities in an Estuarine System. *PLoS ONE*, 9(4).
- ZHANG, Z., WANG, J. J., ALI, A., & DELAUNE, R. D. (2016). Heavy metals and metalloid contamination in Louisiana Lake Pontchartrain Estuary along I-10 Bridge. *Transportation Research Part D : Transport and Environment*, 44, 66-77.
- ZHAO, X. M., & LI, S. (2017). HISP : a hybrid intelligent approach for identifying directed signaling pathways. *Journal of Molecular Cell Biology*, 9(6), 453-462.
- ZHAO, Y., BU, C., YANG, H., QIAO, Z., DING, S., & NI, S. Q. (2020). Survey of dissimilatory nitrate reduction to ammonium microbial community at national wetland of Shanghai, China. *Chemosphere*, 250, 126195.

- ZHOU, J., DENG, Y., LUO, F., HE, Z., TU, Q., & ZHI, X. (2010). Functional molecular ecological networks. *mBio*, 1(4), 1-10.
- ZHOU, J., DENG, Y., LUO, F., HE, Z., & YANG, Y. (2011). Phylogenetic molecular ecological network of soil microbial communities in response to elevated CO₂. *mBio*, 2(4).
- ZHOU, J., HE, Z., YANG, Y., DENG, Y., TRINGED, S. G., & ALVAREZ-COHEN, L. (2015). High-throughput metagenomic technologies for complex microbial community analysis : open and closed formats. *mBio*, 6(1), 1-17.
- ZINGER, L., AMARAL-ZETTLER, L. A., FUHRMAN, J. A., HORNER-DEVINE, M. C., HUSE, S. M., WELCH, D. B., MARTINY, J. B., SOGIN, M., BOETIUS, A., & RAMETTE, A. (2011). Global patterns of bacterial beta-diversity in seafloor and seawater ecosystems. *PLoS ONE*, 6(9).
- ZINGER, L., GOBET, A., & POMMIER, T. (2012). Two decades of describing the unseen majority of aquatic microbial diversity. *Molecular Ecology*, 21(8), 1878-1896.
- ZONG, Y., WU, M., LIU, X., JIN, Y., WANG, G., & LI, M. (2019). *Chitinophaga lutea* sp. nov., isolated from arsenic-contaminated soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(7), 2114-2119.

Annexes

1 Annexe du chapitre 2.

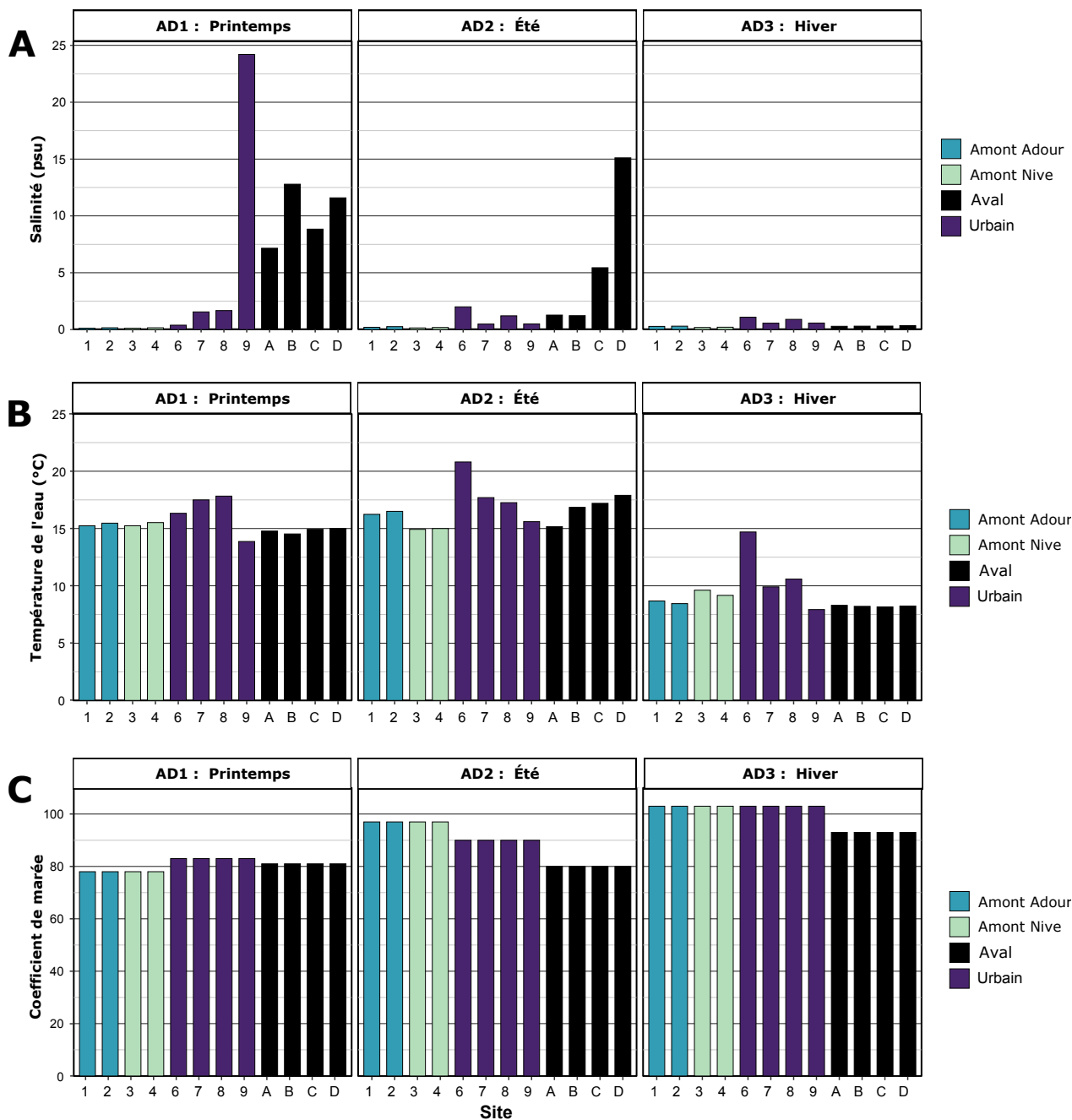


FIGURE A2.1 – Evolution de la salinité (A), de la température de l'eau (B) et du coefficient de marée (C) dans les eaux de l'estuaire de l'Adour au cours de l'échantillonnage. Les couleurs des bars de l'historgramme correspondent aux catégories de position des sites de prélèvement.

2 Annexes du chapitre 3.

TABLEAU A3.1 – Nombre de composés quantifiés et pourcentage (%) de quantification par catégories de composés chimiques, matrices et campagnes.

	Sédiments				Eaux brutes				Eaux filtrées					
	Printemps		Hiver		Printemps		Hiver		Printemps		Été		Hiver	
	Été		Été		Été		Été		Été		Été		Été	
Alkylphénols	-	-	-	-	2 (40)	3 (60)	2 (40)	2 (40)	2 (40)	2 (40)	1 (20)	0 (0)	1 (20)	0 (0)
Métaux	21 (100)	21 (100)	21 (100)	21 (100)	18 (100)	20 (87)	18 (100)	20 (87)	14 (78)	14 (78)	18 (78)	19 (83)	18 (78)	19 (83)
Muscs synthétiques	-	10 (100)	10 (100)	10 (100)	5 (50)	5 (50)	5 (50)	5 (50)	4 (40)	4 (40)	4 (40)	4 (40)	4 (40)	4 (40)
Organométaux	-	-	-	-	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
HAP	-	16 (100)	16 (100)	16 (100)	2 (12)	6 (38)	2 (12)	9 (56)	2 (12)	2 (12)	11 (69)	5 (31)	11 (69)	5 (31)
PCB	-	11 (100)	9 (82)	9 (82)	0 (0)	6 (55)	0 (0)	2 (18)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Pesticides	-	17 (94)	17 (94)	17 (94)	0 (0)	3 (17)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Pharmaceutiques	39 (91)	41 (95)	42 (98)	42 (98)	-	-	-	-	26 (58)	26 (58)	27 (60)	26 (58)	27 (60)	26 (58)
Filtres UV	-	5 (83)	4 (67)	4 (67)	2 (33)	2 (33)	2 (33)	2 (33)	1 (17)	1 (17)	1 (17)	1 (17)	1 (17)	1 (17)
Total par campagne	60 (94)	121 (97)	119 (95)	119 (95)	30 (35)	46 (51)	30 (35)	41 (46)	50 (38)	50 (38)	63 (47)	56 (41)	63 (47)	56 (41)
Total	122 / 125 (98)	122 / 125 (98)	122 / 125 (98)	122 / 125 (98)	53 / 90 (59)	53 / 90 (59)	53 / 90 (59)	53 / 90 (59)	70 / 135 (52)	70 / 135 (52)	70 / 135 (52)	70 / 135 (52)	70 / 135 (52)	70 / 135 (52)

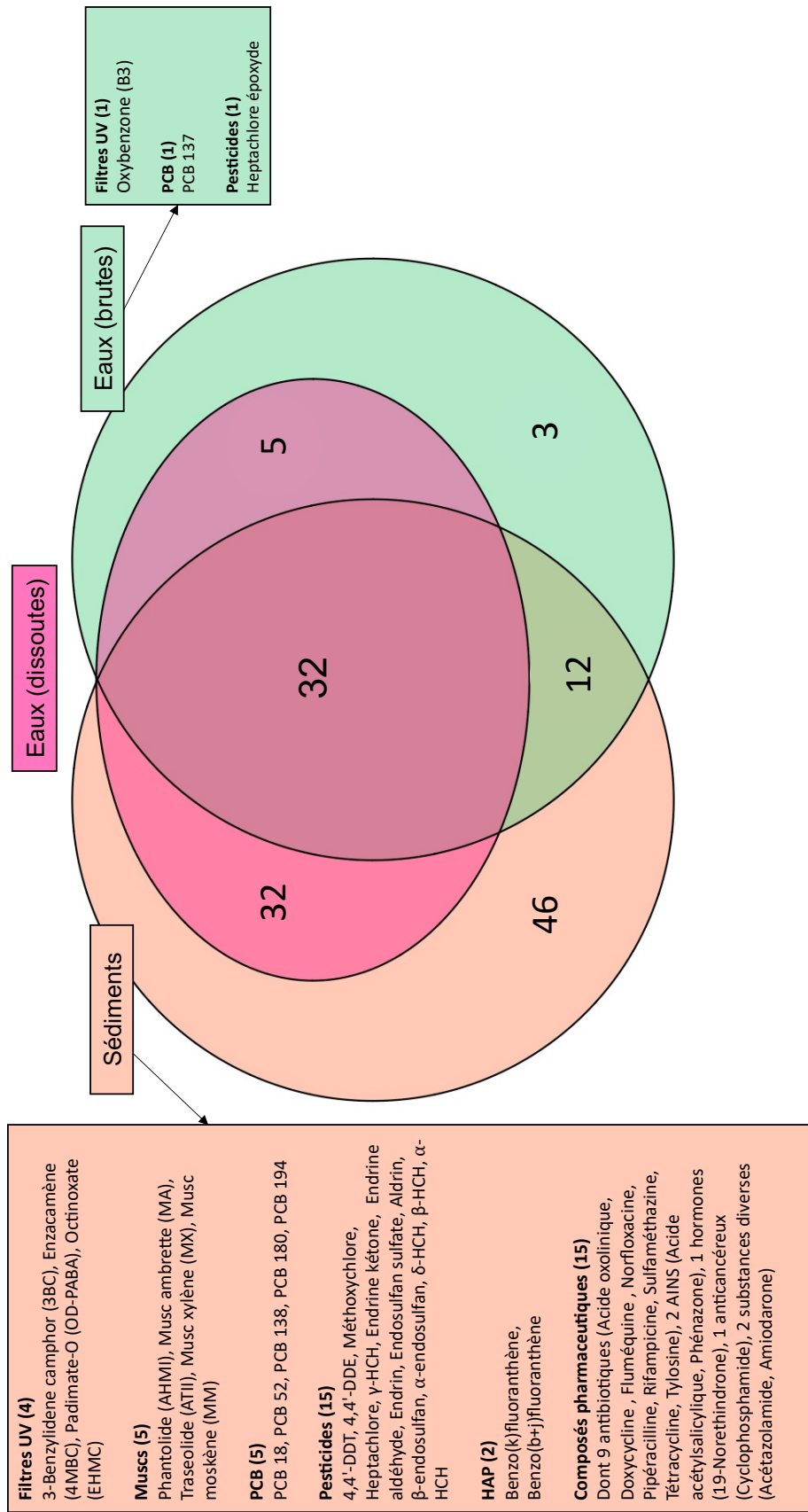


FIGURE A3.1 – Diagramme de Venn des catégories de substances ou substances quantifiées dans les sédiments (uniquement) ou dans l'eau (uniquement) ou les deux.

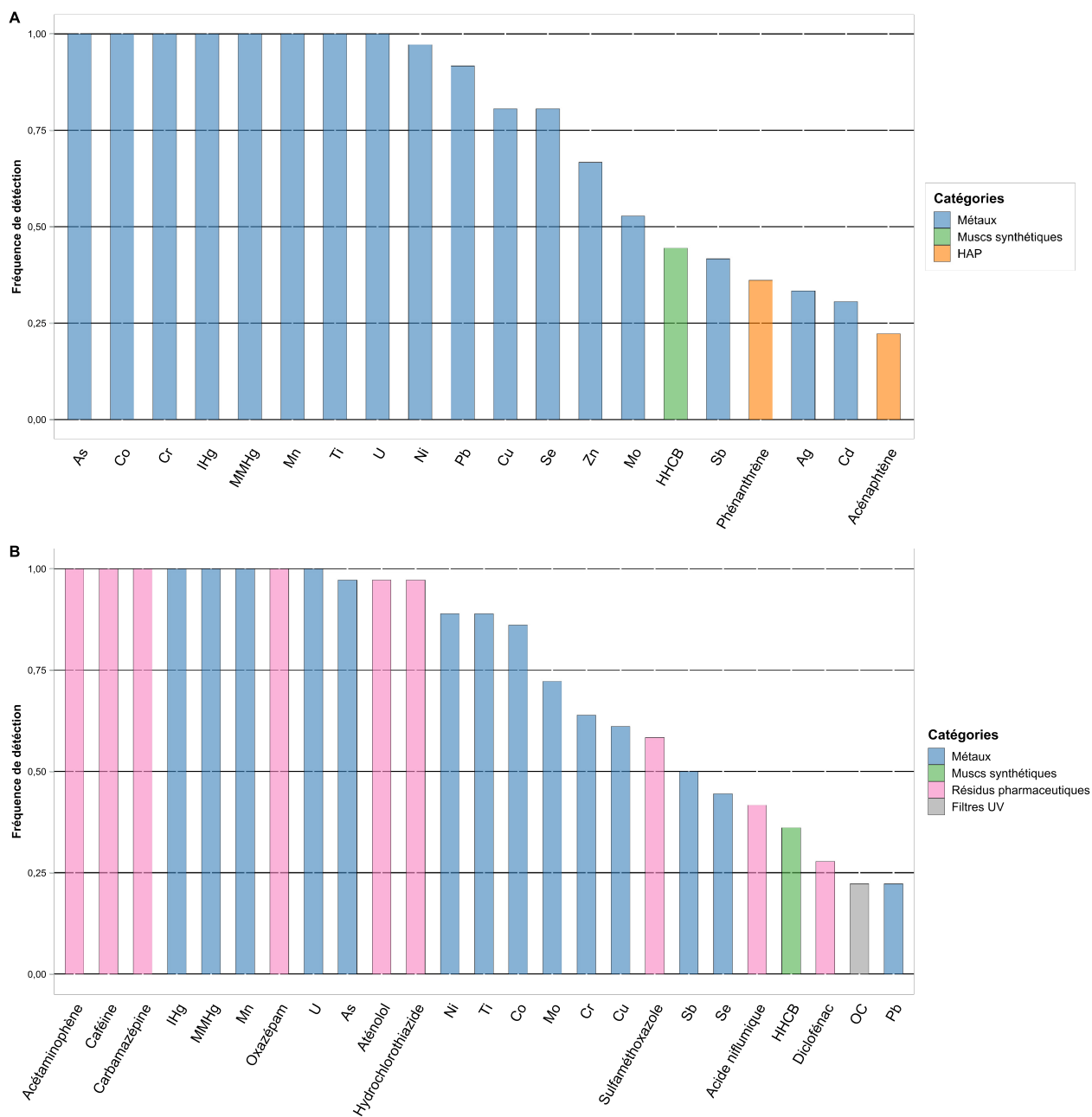


FIGURE A.2.2 – Fréquence de quantification des contaminants chimiques pour les **eaux brutes** (A) et la **fraction dissoute** (B). Seuls les contaminants présentant une fréquence de quantification supérieure ou égale à 0,2 sont illustrés ici. Les couleurs indiquent la classe de contaminants à laquelle la substance est rattachée.

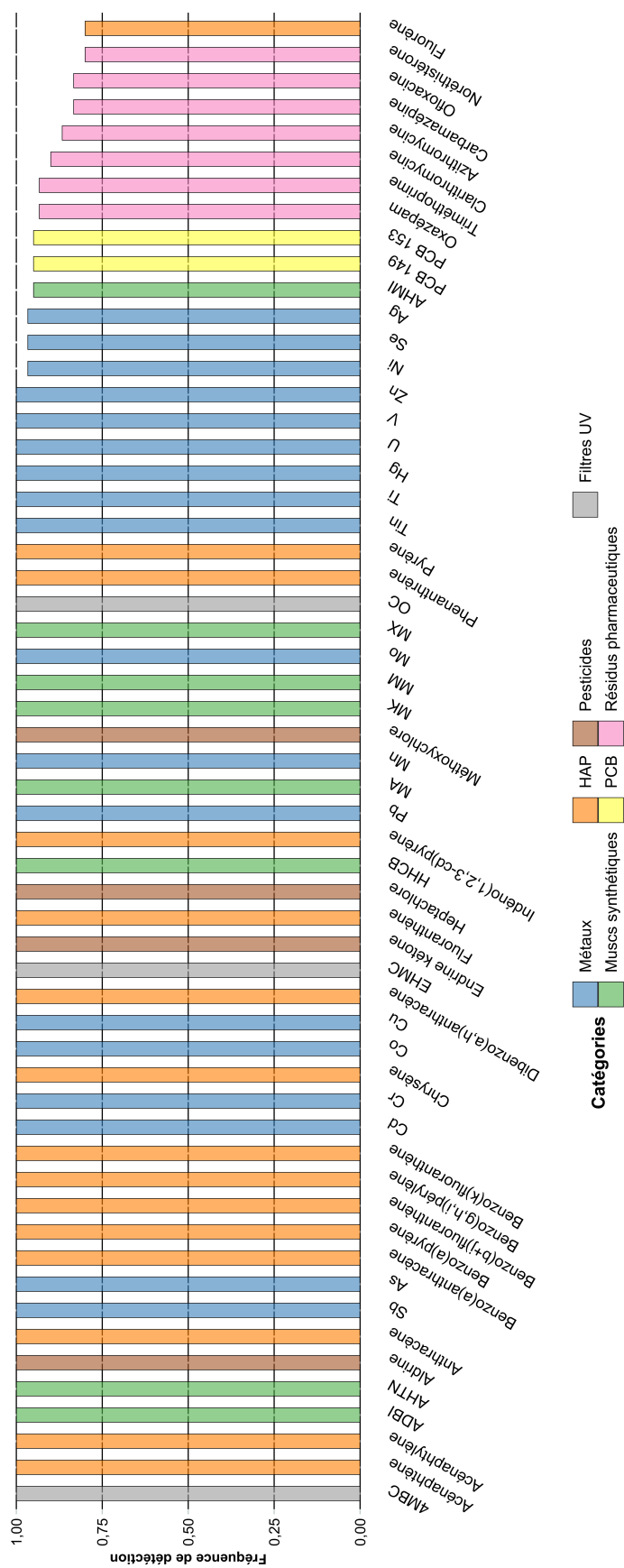


FIGURE A2.3 – Fréquence de détection des contaminants chimiques dans les **sédiments**. Seuls les contaminants présentant une fréquence de détection supérieure ou égale à 0,8 sont illustrés ici. Les couleurs indiquent la classe de contaminants à laquelle la substance est rattachée.

TABLEAU A2.2 – Concentration en micropolluants dans les **sédiments** de l'estuaire de l'Adour. Les micropolluants dont les concentrations sont systématiquement inférieures à la limite de détection, LD, sont exclus. Lorsque la gamme de concentration dépassent l'une des seuils de référence de qualité, celui-ci est indiqué en gras.

Contaminants	Unité	min - max (moyenne)	Seuils de référence de qualité				Estuaire de l'Adour	Estuaire de la Seine	Estuaire de la Gironde
			N1	N2	ERL	ERM			
Métaux									
Ag	$\mu\text{g.g}^{-1}$	< LD - 3,0 (1,2)	-	-	1	3,7	-	-	-
As	$\mu\text{g.g}^{-1}$	6,6 - 19 (13)	25	50	8,2	70	-	-	3,06 – 37,4 (16,9) ^e
Ba	$\mu\text{g.g}^{-1}$	34 - 90 (63)	-	-	-	-	-	-	-
Cd	$\mu\text{g.g}^{-1}$	0,052 - 2,7 (0,92)	1,2	2,4	1,2	9,6	-	(6,17) ^b	0,011 – 2,09 (0,454) ^e
Co	$\mu\text{g.g}^{-1}$	1,9 - 16 (11)	-	-	-	-	-	-	-
Cr	$\mu\text{g.g}^{-1}$	3,3 - 61 (30)	90	180	81	370	-	(98) ^b	1,34 – 140 (66,8) ^e
Cu	$\mu\text{g.g}^{-1}$	18,9 - 212 (45,1)	45	90	34	270	-	(133) ^b	0,493 – 40,1 (20,5) ^e
Hg	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	32,3 - 172 (79,2)	400	800	150	710	-	-	1 – 366 (114) ^e
Mn	$\mu\text{g.g}^{-1}$	176 - 1 130 (660)	-	-	-	-	-	-	-
Mo	$\mu\text{g.g}^{-1}$	0,13 - 45 (12)	-	-	-	-	-	-	-
Ni	$\mu\text{g.g}^{-1}$	< LD - 33 (22)	37	74	20,9	51,6	-	(31) ^b	0,883 – 48,4 (26,8) ^e
Pb	$\mu\text{g.g}^{-1}$	18 - 91 (36)	100	200	46,7	218	-	(138) ^b	4,97 – 83,8 (41,8) ^e
Sb	$\mu\text{g.g}^{-1}$	0,18 - 3,2 (0,82)	-	-	-	-	-	-	-
Se	$\mu\text{g.g}^{-1}$	< LD - 5,8 (2,3)	-	-	-	-	-	-	-
Sn	$\mu\text{g.g}^{-1}$	0,68 - 14 (2,9)	-	-	-	-	-	-	-
Sr	$\mu\text{g.g}^{-1}$	13,2 - 146 (83,4)	-	-	-	-	-	-	-
Th	$\mu\text{g.g}^{-1}$	2,6 - 6,9 (5,0)	-	-	-	-	-	-	0,790 – 16,8 (9,26) ^e
Ti	$\mu\text{g.g}^{-1}$	25 - 810 (220)	-	-	-	-	-	-	-
U	$\mu\text{g.g}^{-1}$	0,31 - 0,87 (0,62)	-	-	-	-	-	-	-
V	$\mu\text{g.g}^{-1}$	6,8 - 39 (28)	-	-	-	-	-	-	-
Zn	$\mu\text{g.g}^{-1}$	65,7 - 799 (366)	276	552	150	410	-	(448) ^b	3,95 – 323 (150) ^e
HAP									
Acénaphène	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	46,6 - 252 (141)	15	260	16	500	-	< LQ – 50,1 ^{c**}	-
Acénaphylène	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	1,9 - 63 (12)	40	340	44	640	-	< LQ – 21,8 ^{c**}	-
Anthracène	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	5,21 - 123 (35,0)	85	590	85	1 100	-	1,77 – 1 210 ^{c**}	0,5 – 115 ^f
Benzo(a) anthracène	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	10,6 - 501 (110)	260	930	261	1 600	-	^{c**}	0,1 – 370 ^f
Benzo(a)pyrène	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	12,0 - 389 (69,4)	430	1 015	430	1 600	-	4,52 - 830 ^{c**}	1,9 – 508 ^f
Benzo(b+j) fluoranthène	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	18,1 - 569 (129)	400	900	-	-	-	^{c**}	3,1 – 476 ^f
Benzo(g,h,i) pérylène	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	8,33 - 373 (63,3)	1	5 650	-	-	-	4,26 – 825 ^{c**}	0,2 – 372 ^f
Benzo(k) fluoranthène	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	9,48 - 262 (62,9)	200	400	-	-	-	2,3 – 403 ^{c**}	0,4 – 403 ^f
Chrysène	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	10,0 - 393 (81,7)	380	1 590	384	2 800	-	3,92 – 706,0 ^{c**}	-
Dibenzo(a,h) anthracène	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	2,91 - 97,8 (16,9)	60	160	63,4	260	-	< LQ – 123 ^{c**}	18,5 – 4 888 ^f

TABLEAU A2.2 – Concentration en micropolluants dans les **sédiments** de l'estuaire de l'Adour. Les micropolluants dont les concentrations sont systématiquement inférieures à la limite de détection, LD, sont exclus. Lorsque la gamme de concentration dépassent l'une des seuils de référence de qualité, celui-ci est indiqué en gras. (suite)

Contaminants	Unité	min - max (moyenne)	N1	N2	ERL	ERM	Estuaire de l'Adour	Estuaire de la Seine	Estuaire de la Gironde
Fluoranthène	µg.kg ⁻¹	19,0 - 963 (205)	600	2 850	600	5 100	-	9,24 - 1 590 ^{c**}	1,4 - 440 ^f
Fluorène	µg.kg ⁻¹	< LD - 34 (5,8)	20	180	19	540	-	< LQ - 191 ^{c**}	-
Indéno(1,2,3- cd)pyrène	µg.kg ⁻¹	7,64 - 333 (59,8)	1 700	5 650	-	-	-	191 ^{c**}	0,2 - 316 ^f
Naphtalène	µg.kg ⁻¹	< LD - 6,3 (2,5)	160	1 130	160	2 100	-	< LQ - 151 ^{c**}	-
Phenanthrène	µg.kg ⁻¹	11,8 - 360 (82,0)	240	870	240	1 500	-	6,9 - 724 ^{c**}	4,6 - 252 ^f
Pyrène	µg.kg ⁻¹	16,1 - 777 (174)	500	1 500	665	2 600	-	7,1 - 1 208 ^{c**}	1,5 - 387 ^f
∑ des HAP	µg.kg ⁻¹	220 - 5 340 (1 250)	-	-	4 022	44 792	-	308 - 5 928 ^d	-
PCB									
PCB 18	µg.kg ⁻¹	< LD - 0,97 (0,26)	-	-	-	-	-	-	-
PCB 28+31	µg.kg ⁻¹	< LD - 2,7 (0,23)	-	-	-	-	-	-	-
PCB 44	µg.kg ⁻¹	< LD - 0,70 (0,35)	-	-	-	-	-	-	-
PCB 52	µg.kg ⁻¹	< LD - 4,0 (1,3)	5	10	-	-	-	-	< 0,2 ^g
PCB 101	µg.kg ⁻¹	< LD - 2,4 (0,6)	10	20	-	-	-	-	< 0,2 ^g
PCB 118	µg.kg ⁻¹	< LD - 0,92 (0,28)	10	20	-	-	-	0,189 - 72,6 ^{c**}	0,24 ^g
PCB 138	µg.kg ⁻¹	< LD - 3,1 (0,79)	20	40	-	-	-	-	0,6 ^g
PCB 149	µg.kg ⁻¹	< LD - 1,8 (0,59)	-	-	-	-	-	-	-
PCB 153	µg.kg ⁻¹	< LD - 3,2 (0,97)	20	40	-	-	-	-	0,76 ^g
PCB 180	µg.kg ⁻¹	< LD - 2,0 (0,58)	10	20	-	-	-	-	0,53 ^g
PCB 194	µg.kg ⁻¹	< LD - 1,4 (0,7)	-	-	-	-	-	-	-
∑ des PCB	µg.kg ⁻¹	0,13 - 20 (4,9)	-	-	22,7	180	-	-	-
Pesticides									
Aldrine	µg.kg ⁻¹	3,8 - 62 (18)	-	-	-	-	-	< LQ ^{c**}	-
Dieldrine	µg.kg ⁻¹	< LD - 7,0 (1,8)	-	-	-	-	-	< LQ ^{c**}	-
Endrine	µg.kg ⁻¹	< LD - 14 (4,7)	-	-	-	-	-	< LQ - 2,5 ^{c**}	-
Endrine aldéhyde	µg.kg ⁻¹	< LD - 1,6 (0,3)	-	-	-	-	-	-	-
Endrine kétone	µg.kg ⁻¹	331 - 5 090 (1 600)	-	-	-	-	-	-	-
α-HCH	µg.kg ⁻¹	< LD - 12 (5,3)	-	-	-	-	-	-	-
β-HCH	µg.kg ⁻¹	< LD - 6,5 (1,4)	-	-	-	-	-	-	-
δ-HCH	µg.kg ⁻¹	< LD - 2 910 (347)	-	-	-	-	-	-	-
γ-HCH	µg.kg ⁻¹	< LD - 126 (34,4)	-	-	-	-	-	-	-
α-endosulfan	µg.kg ⁻¹	< LD - 7,0 (2,7)	-	-	-	-	-	< LQ ^{c**}	-
β-endosulfan	µg.kg ⁻¹	< LD - 35 (8,1)	-	-	-	-	-	< LQ - 7,7 ^{c**}	-
Endosulfan sulfate	µg.kg ⁻¹	< LD - 20 (5,9)	-	-	-	-	-	< LQ ^{c**}	-
Heptachlore	µg.kg ⁻¹	584 - 2 390 (1 340)	-	-	-	-	-	< LQ - 1,1 ^{c**}	-
Méthoxychlore	µg.kg ⁻¹	77,9 - 7 760 (1 270)	-	-	-	-	-	-	-
4,4'-DDD	µg.kg ⁻¹	< LD - 23 (6,7)	-	-	-	-	-	< LQ - 4,6 ^{c**}	-
4,4'-DDE	µg.kg ⁻¹	< LD - 5,3 (1,6)	-	-	2,2	27	-	< LQ - 7,7 ^{c**}	-
4,4'-DDT	µg.kg ⁻¹	< LD - 135 (51,3)	-	-	-	-	-	< LQ - 16,4 ^{c**}	-
∑ des pesticides	µg.kg ⁻¹	2 400 - 14 810 (4 631)	-	-	-	-	-	-	-
Muscs : nitro-aromatique									

TABLEAU A2.2 – Concentration en micropolluants dans les **sédiments** de l'estuaire de l'Adour. Les micropolluants dont les concentrations sont systématiquement inférieures à la limite de détection, LD, sont exclus. Lorsque la gamme de concentration dépassent l'une des seuils de référence de qualité, celui-ci est indiqué en gras. (suite)

Contaminants	Unité	min - max (moyenne)	N1	N2	ERL	ERM	Estuaire de l'Adour	Estuaire de la Seine	Estuaire de la Gironde
MA	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	2,2 - 24 (12)	-	-	-	-	-	-	-
MM	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 0,11 (0,047)	-	-	-	-	-	-	-
MK	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	0,17 - 4,0 (1,1)	-	-	-	-	-	-	-
MX	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	0,15 - 5,9 (2,5)	-	-	-	-	-	< LQ ^{c**}	-
Muscs : polycyclique									
ADBI	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	0,023 - 0,320 (0,140)	-	-	-	-	-	-	-
AHMI	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 1,0 (0,25)	-	-	-	-	-	-	-
AHTN	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	0,37 - 19 (3,7)	-	-	-	-	-	-	-
ATII	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 0,36 (0,076)	-	-	-	-	-	-	-
HHCB	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	0,67 - 110 (18)	-	-	-	-	-	< LQ - 31,6 ^{c**}	-
HHCB-L	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 26 (3,7)	-	-	-	-	-	-	-
Filtres UV									
OC	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	0,40 - 320 (28)	-	-	-	-	-	-	-
EHMC	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	0,96 - 12 (3,8)	-	-	-	-	-	-	-
4MBC	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 9,9 (2,8)	-	-	-	-	-	-	-
3BC	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 15 (5,4)	-	-	-	-	-	-	-
OD-PABA	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 15 (4,8)	-	-	-	-	-	-	-
Substances pharmaceutiques : AINS									
Acétaminophène	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 9,1 (0,84)	-	-	-	-	-	-	-
Acide niflumique	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 1,8 (0,38)	-	-	-	-	-	-	-
Aspirine	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 503 (50,1)	-	-	-	-	-	-	-
Ibuprofène	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 10 (2,6)	-	-	-	-	-	-	-
Kétoprofène	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 8,6 (1,6)	-	-	-	-	-	-	-
Phénazone	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 1,5 (0,52)	-	-	-	-	-	-	-
Substances pharmaceutiques : Antibiotiques									
Acide oxolinique	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 26 (3,3)	-	-	-	-	-	-	-
Azithromycine	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 16 (4,1)	-	-	-	-	-	-	-
Ciprofloxacine	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 226 (11,9)	-	-	-	-	-	-	-
Clarithromycine	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 0,96 (0,12)	-	-	-	-	-	-	-
Doxycycline	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 22 (3,8)	-	-	-	-	-	-	-
Josamycine	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 0,330 (0,120)	-	-	-	-	-	-	-
Norfloxacine	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 19 (3,8)	-	-	-	-	-	-	-
Ofloxacine	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 18 (4,9)	-	-	-	-	-	-	-
Pipéracilline	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 6,9 (1,0)	-	-	-	-	-	-	-
Sulfaméthazine	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 0,34 (0,099)	-	-	-	-	-	-	-
Sulfaméthoxazole	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 1,0 (0,33)	-	-	-	-	-	-	-
Tétracycline	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 7,6 (1,3)	-	-	-	-	-	-	-
Triméthoprime	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 20 (2,7)	-	-	-	-	-	-	-
Substances pharmaceutiques : Anxiolytiques									
Lorazépam	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 7,8 (2,6)	-	-	-	-	-	-	-
Nordazepam	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 0,058 (0,016)	-	-	-	-	-	-	-

TABLEAU A2.2 – Concentration en micropolluants dans les **sédiments** de l'estuaire de l'Adour. Les micropolluants dont les concentrations sont systématiquement inférieures à la limite de détection, LD, sont exclus. Lorsque la gamme de concentration dépassent l'une des seuils de référence de qualité, celui-ci est indiqué en gras. (suite)

Contaminants	Unité	min - max (moyenne)	N1	N2	ERL	ERM	Estuaire de l'Adour	Estuaire de la Seine	Estuaire de la Gironde
Oxazépam	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 12 (2,2)	-	-	-	-	-	-	-
Substances pharmaceutiques : Cardiovasculaires									
Aténolol	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 0,48 (0,076)	-	-	-	-	-	-	-
Losartan	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 17 (0,76)	-	-	-	-	-	-	-
Metoprolol	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 0,22 (0,060)	-	-	-	-	-	-	-
Substances pharmaceutiques : Autres									
Amiodarone	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 1 630 (125)	-	-	-	-	-	-	-
Caféine	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 100 (9,1)	-	-	-	-	-	-	-
Carbamazépine	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 1,8 (0,20)	-	-	-	-	-	-	-
Cyclophosphamide	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 0,099 (0,036)	-	-	-	-	-	-	-
Gemfibrozil	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 0,36 (0,12)	-	-	-	-	-	-	-
Hydrochlorothiazide	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 0,88 (0,16)	-	-	-	-	-	-	-
Noréthindrone	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	< LD - 265 (40,8)	-	-	-	-	-	-	-

LD : Limite de détection ; LQ : Limite de quantification ; ATII : Traseolide, 4MBC : Enzacamène, 3BC : 3-Benzylidene camphor, OD-PABA : Padimate-O ; * : Médiane ; ** : Seine de l'embouchure à Oissel de 01/01/15 à 01/01/20 ; a : Stoichev et al., 2004 ; b : Hamzeh et al., 2014 ; c : <http://www.naiades.eaufrance.fr> ; d : Huguet et al., 2018 ; e : Larrose et al., 2010 ; f : Budzinski et al., 1997 ; g : Gouriou et al., 2018

TABLEAU A2.3 – Concentration en micropolluants dans l'**eau brute** de l'estuaire de l'Adour. Les micropolluants dont les concentrations sont systématiquement inférieures à la limite de détection, LD, sont exclus de ce tableau.

Contaminants	Unité	min - max (moyenne)	Estuaire de l'Adour	Estuaire de la Seine	Ria de Huelva, Espagne
Métaux					
Ag	$\mu\text{g.L}^{-1}$	<LD - 1,9 (0,16)	-	-	-
Al	$\mu\text{g.L}^{-1}$	96,19 - 1 119 (390,7)	-	-	-
As	$\mu\text{g.L}^{-1}$	0,89 - 7,1 (2,3)	-	-	(4,79) ^c
Ba	$\mu\text{g.L}^{-1}$	13,8 - 54,5 (23,2)	-	-	-
Cd	$\mu\text{g.L}^{-1}$	<LD - 1,9 (0,16)	-	-	(2,81) ^c
Co	$\mu\text{g.L}^{-1}$	0,12 - 1,8 (0,64)	-	-	-
Cr	$\mu\text{g.L}^{-1}$	0,68 - 19 (6,2)	-	-	-
Cu	$\mu\text{g.L}^{-1}$	<LD - 82 (3,7)	-	-	(46,38) ^c
Fe	$\mu\text{g.L}^{-1}$	1 890 - 8 540 (3 900)	-	-	-
Mn	$\mu\text{g.L}^{-1}$	18,4 - 202 (62,3)	-	-	-
Mo	$\mu\text{g.L}^{-1}$	<LD - 3,8 (0,7)	-	-	-
Ni	$\mu\text{g.L}^{-1}$	<LD - 3,6 (1,4)	-	-	-
Pb	$\mu\text{g.L}^{-1}$	<LD - 3,6 (0,97)	-	-	(6,27) ^c
Sb	$\mu\text{g.L}^{-1}$	<LD - 1,9 (0,32)	-	-	-
Se	$\mu\text{g.L}^{-1}$	<LD - 15 (5,4)	-	-	-
Sn	$\mu\text{g.L}^{-1}$	<LD - 1,9 (0,17)	-	-	-
Sr	$\mu\text{g.L}^{-1}$	127,5 - 15 090 (1 021)	-	-	-

TABLEAU A2.3 – Concentration en micropolluants dans l’eau brute de l’estuaire de l’Adour. Les micropolluants dont les concentrations sont systématiquement inférieures à la limite de détection, LD, sont exclus de ce tableau. (suite)

Contaminants	Unité	min - max (moyenne)	Estuaire de l’Adour	Estuaire de la Seine	Ria de Huelva, Espagne
Th	µg.L ⁻¹	<LD - 0,48 (0,062)	-		-
Ti	µg.L ⁻¹	<LD - 13 (4,7)	-		-
U	µg.L ⁻¹	<LD - 2,4 (0,47)	-		-
V	µg.L ⁻¹	1,2 - 13 (4,3)	-		-
Zn	µg.L ⁻¹	<LD - 159 (28,4)	-		(167,17) ^c
IHg	ng.L ⁻¹	0,66 - 8,2 (2,5)	-		-
MMHg	ng.L ⁻¹	0,024 - 0,23 (0,059)	-		-
HAP					
Acénaphène	ng.L ⁻¹	<LD - 42 (5,7)	-	< LQ - 178 ^b	-
Benzo(a)anthracène	ng.L ⁻¹	<LD - 14 (2,9)	-	< LQ - 88 ^b	-
Benzo(a)pyrène	ng.L ⁻¹	<LD - 9,1 (2,7)	-	< LQ - 139 ^b	-
Fluoranthène	ng.L ⁻¹	<LD - 90 (5,4)	-	< LQ - 282 ^b	-
Fluorène	ng.L ⁻¹	<LD - 43 (4,3)	-	< LQ - 175 ^b	-
Naphtalène	ng.L ⁻¹	<LD - 2 615 (114,4)	-	< LQ - 1 360 ^b	-
Phenanthrène	ng.L ⁻¹	<LD - 2 503 (96,14)	-	< LQ - 745 ^b	-
Pyrène	ng.L ⁻¹	<LD - 61 (4,6)	-	< LQ - 245 ^b	-
Σ des HAP	ng.L ⁻¹	<LD - 5 368 (198,82)	-		-
PCB					
PCB 101	ng.L ⁻¹	<LD - 6,7 (2,6)	-	< LQ - 4 ^b	-
PCB 118	ng.L ⁻¹	<LD - 21 (3,0)	-	< LQ - 3 ^b	-
PCB 137	ng.L ⁻¹	<LD - 6,6 (2,6)	-	NA	-
PCB 149	ng.L ⁻¹	<LD - 10 (2,7)	-		-
PCB 153	ng.L ⁻¹	<LD - 6,7 (2,6)	-	< LQ - 40 ^b	-
PCB 28+31	ng.L ⁻¹	<LD - 67,7 (12,9)	-		-
Σ des PCB	ng.L ⁻¹	<LD - 70,6 (10,3)	-		-
Pesticides					
Heptachlore époxyde	ng.L ⁻¹	<LD - 6,8 (2,6)	-		-
Muscs synthétiques					
ADBI	ng.L ⁻¹	<LD - 13 (0,99)	(1,1) ^a		-
AHTN	ng.L ⁻¹	<LD - 180 (15,9)	< LQ ^a		-
HHCB	ng.L ⁻¹	<LD - 1 768 (103,0)	< LQ ^a	< LQ - 33,2 ^b	-
HHCB-L	ng.L ⁻¹	<LD - 522 (40,1)	-		-
MK	ng.L ⁻¹	<LD - 41 (3,0)	(0,2) ^a		-
Filtres UV					
B3	ng.L ⁻¹	<LD - 70 (12)	-		-
OC	ng.L ⁻¹	<LD - 406 (19,8)	-		-
Alkylphénols					
NP	ng.L ⁻¹	<LD - 40 (7,0)	-	< LQ - 320 ^b	-
NPEO1	ng.L ⁻¹	<LD - 510 (41,2)	-		-
NPEO2	ng.L ⁻¹	<LD - 90 (28)	-		-

LD : Limite de détection ; LQ : Limite de quantification ; Al : Aluminium ;

Fe : Fer ; NP : Nonylphénol ; NPEO1 : Nonylphénol monoéthoxylé ; NPEO2 : Nonylphénol diéthoxylé ; B3 : Oxybenzone

a : Cavalheiro, 2004 ; b : <http://www.naiades.eaufrance.fr> ; c : Vicente-Martorell et al., 2009

TABLEAU A2.4 – Concentrations en micropolluants dans les **eaux** de l'estuaire de l'Adour dans la **fraction dissoute**. Les micropolluants dont les concentrations sont systématiquement inférieures à la limite de détection, LD, sont exclus de ce tableau.

Contaminants	Unité	min - max (moyenne)	Estuaire de l'Adour	Estuaire de la Seine	Estuaire de la Gironde
Métaux					
Ag	µg.L ⁻¹	<LD - 1,6 (0,14)	0,005 ^a		
Al	µg.L ⁻¹	<LD - 130 (36,0)	67,851 ^a		
As	µg.L ⁻¹	<LD - 6,7 (1,2)	1,094 ^a	0,69 - 2,09 (1,17) ^{*e}	1,3 - 5,3 (2,3) ^h
Ba	µg.L ⁻¹	8,7 - 58 (23)			
Cd	µg.L ⁻¹	<LD - 1,6 (0,14)	0,009 ^a	0,005 - 0,073 (0,030) ^{*e} ; (0,7) ^{**f}	0,007 - 0,03 (0,02) ^h
Co	µg.L ⁻¹	<LD - 1,5 (0,27)	0,165 ^a		
Cr	µg.L ⁻¹	<LD - 7,6 (0,62)	1,113 ^a		0,007 - 0,03 (0,7) ^h
Cu	µg.L ⁻¹	<LD - 4,2 (0,53)	1,092 ^a	0,34 - 4,33 (1,89) ^{*e} ; (4,1) ^{**f}	0,7 - 2,2 (1,3) ^h
Fe	µg.L ⁻¹	1 197 - 6 594 (2 483)			
Mn	µg.L ⁻¹	3,46 - 151 (41,4)	7,741 ^a		
Mo	µg.L ⁻¹	<LD - 6,0 (1,0)			
Ni	µg.L ⁻¹	<LD - 1,6 (0,57)			0,2 - 0,7 (0,4) ^h
Pb	µg.L ⁻¹	<LD - 1,6 (0,22)	0,108 ^a	0,079 - 1,16 (0,458) ^{*e} ; (1,5) ^{**f}	0,02 - 0,1 (0,06) ^h
Sb	µg.L ⁻¹	<LD - 1,6 (0,21)			
Se	µg.L ⁻¹	<LD - 4,1 (0,55)			
Sn	µg.L ⁻¹	<LD - 1,6 (0,16)			
Sr	µg.L ⁻¹	<LD - 8 200 (576,5)			
Th	µg.L ⁻¹	<LD - 0,62 (0,087)			
Ti	µg.L ⁻¹	<LD - 2,9 (0,80)			
U	µg.L ⁻¹	0,11 - 1,6 (0,44)	0,452 ^a		
V	µg.L ⁻¹	<LD - 7,7 (0,91)			
Zn	µg.L ⁻¹	<LD - 156 (16,5)	2,027 ^a	2,7 - 26,10 (11,54) ^{*e} ; (46) ^{**f}	0,6 - 7,7 (2,5) ^h
IHg	ng.L ⁻¹	0,30 - 4,5 (0,86)	0,07 - 0,88 (0,37) ^c		
MMHg	ng.L ⁻¹	0,015 - 0,11 (0,038)	0,01 - 0,06 (0,03) ^c		
HAP					
Acénaphthène	ng.L ⁻¹	<LD - 12 (3,5)			
Anthracène	ng.L ⁻¹	<LD - 35 (3,7)			
Benzo(a)anthracène	ng.L ⁻¹	<LD - 8,6 (2,7)	NA - 1 (1) ^b		
Benzo(a)pyrène	ng.L ⁻¹	<LD - 6,7 (2,6)			
Benzo(g,h,i)pérylène	ng.L ⁻¹	<LD - 7,7 (2,6)			
Chrysène	ng.L ⁻¹	<LD - 6,2 (2,6)			
Dibenzo(a,h)anthracène	ng.L ⁻¹	<LD - 12 (2,8)			
Indéno(1,2,3-cd)pyrène	ng.L ⁻¹	<LD - 8,4 (2,7)			
Naphtalène	ng.L ⁻¹	<LD - 488 (39,1)			
Phenanthrène	ng.L ⁻¹	<LD - 25 (4,0)	2 - 16 (9) ^b		
∑ des HAP	ng.L ⁻¹	<LD - 488 (21.31)		15 - 74 ^e	
Muscs synthétiques					
MK	ng.L ⁻¹	<LD - 4,6 (0,62)	1,6 - 1,6 ^c		
ADBI	ng.L ⁻¹	<LD - 4,4 (0,66)			
AHTN	ng.L ⁻¹	<LD - 60 (5,4)	15,3 - 15,3 ^c		
HHCB	ng.L ⁻¹	<LD - 815 (52,0)	19,5 - 63,9 (39,6) ^c		
HHCB-L	ng.L ⁻¹	<LD - 247 (10,5)			
Filtres UV					

TABLEAU A2.4 – Concentrations en micropolluants dans les **eaux** de l'estuaire de l'Adour dans la **fraction dissoute**. Les micropolluants dont les concentrations sont systématiquement inférieures à la limite de détection, LD, sont exclus de ce tableau. (suite)

Contaminants	Unité	min - max (moyenne)	Estuaire de l'Adour	Estuaire de la Seine	Estuaire de la Gironde
OC	ng.L ⁻¹	<LD - 38 (5,5)			40 – 200 (70)* ⁱ
Alkylphénols					
NP	ng.L ⁻¹	<LD - 89 (7,3)	914 – 1 579 (1 190) ^c		
NPEO1	ng.L ⁻¹	<LD - 109 (27,3)			
NPEO2	ng.L ⁻¹	<LD - 143 (30,6)			
Substances pharmaceutiques : AINS					
Acétaminophène	ng.L ⁻¹	27,21 - 2 092 (218,5)			(199)* ^j
Acide niflumique	ng.L ⁻¹	<LD - 318 (16,9)			
Diclofénac	ng.L ⁻¹	<LD - 2 490 (119)	8 – 23 ^d	8 – 380 ^d	< LD – 4 ^d
Ibuprofène	ng.L ⁻¹	<LD - 1 020 (62,8)	14 – 37 ^d	5 – 610 ^d	< LD – 3 ^d
Kétoprofène	ng.L ⁻¹	<LD - 2 450 (134)	< LD – 3 ^d	3 – 78 ^d	< LD – 24 ^d
Substances pharmaceutiques : Antibiotiques					
Azithromycine	ng.L ⁻¹	<LD - 185 (14,5)			
Ciprofloxacine	ng.L ⁻¹	<LD - 135 (11,1)			
Clarithromycine	ng.L ⁻¹	<LD - 127 (8,11)			
Erythromycine A	ng.L ⁻¹	<LD - 315 (18,5)			
Gemfibrozil	ng.L ⁻¹	<LD - 84 (6,3)	1 – 9 ^d	3 – 126 ^d	< LD – 4 ^d
Josamycine	ng.L ⁻¹	<LD - 16 (1,2)			
Métronidazole	ng.L ⁻¹	<LD - 140 (10,4)			
Ofloxacine	ng.L ⁻¹	<LD - 239 (17,0)			
Roxithromycine	ng.L ⁻¹	<LD - 103 (5,65)			
Spiramycine	ng.L ⁻¹	<LD - 192 (16,9)			
Sulfadiazine	ng.L ⁻¹	<LD - 99 (4,8)			
Sulfaméthoxazole	ng.L ⁻¹	<LD - 181 (16,4)			
Triméthoprime	ng.L ⁻¹	<LD - 117 (6,76)			
Substances pharmaceutiques : Anxiolytiques					
Lorazépam	ng.L ⁻¹	<LD - 36 (4,2)			(1,6)*** ^j
Nordazepam	ng.L ⁻¹	<LD - 25 (1,8)			(0,6)*** ^j
Oxazépam	ng.L ⁻¹	3,86 - 6 190 (448)			(30)*** ^j
Substances pharmaceutiques : Cardiovasculaires					
Aténolol	ng.L ⁻¹	<LD - 980 (70)			(6,9)* ^j
Losartan	ng.L ⁻¹	<LD - 563 (34,2)			(3)*** ^j
Metoprolol	ng.L ⁻¹	<LD - 283 (16,5)			(0,9)*** ^j
Substances pharmaceutiques : Autres					
Caféine	ng.L ⁻¹	15,28 - 10 560 (644,3)	< LD – 16 ^d	40 – 860 ^d	< LD – 31 ^d
Carbamazépine	ng.L ⁻¹	1,72 - 812 (50,1)	< LD – 8 ^d	3 – 164 ^d	< LD – 13 ^d
Hydrochlorothiazide	ng.L ⁻¹	<LD - 1 800 (100)			

LD : Limite de détection ; * : valeurs à Poses ; ** : valeurs à la Bouille ; *** : valeurs à Bordeaux ; a : Point et al., 2007 ; b : Cavalheiro et al., 2017 ; c : Budzinski, 2003 d'après Togola, 2006 ; d : Bombléd & Cossa, 1992 e : Avoine et al, 1986 d'après Bombléd & Cossa, 1992 f : Huguet et al., 2018 ; g : Deycard, 2015 ; h : Aminot, 2013 ; i : Aminot et al., 2016

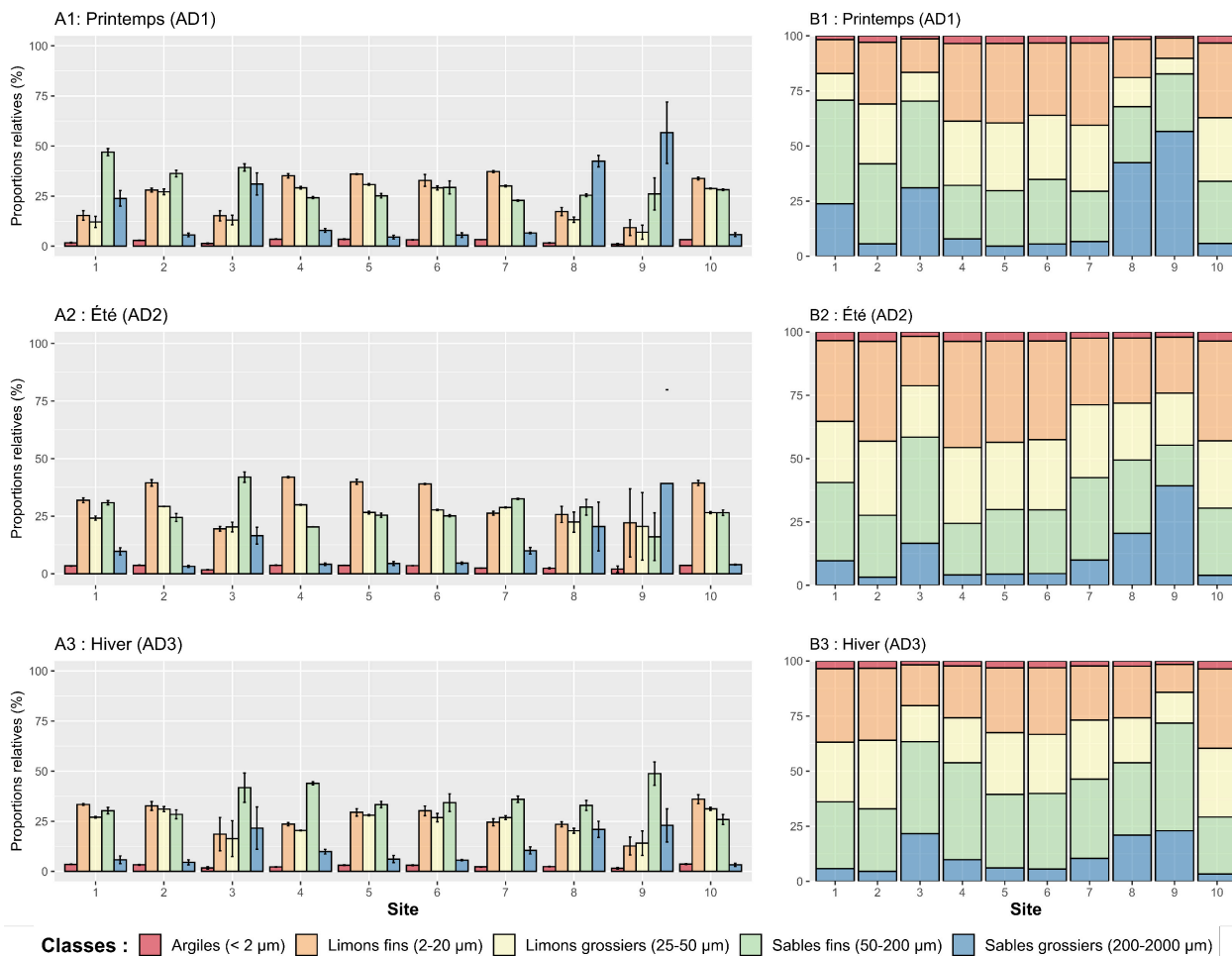


FIGURE A2.4 – Proportions relatives moyennes des classes granulométriques obtenues pour les sédiments de l’estuaire de l’Adour par saison. Ces représentations illustrent les moyennes et écart-type des classes de granulométriques par site (A) et les moyennes cumulées par site (B).

3 Annexes du chapitre 5.

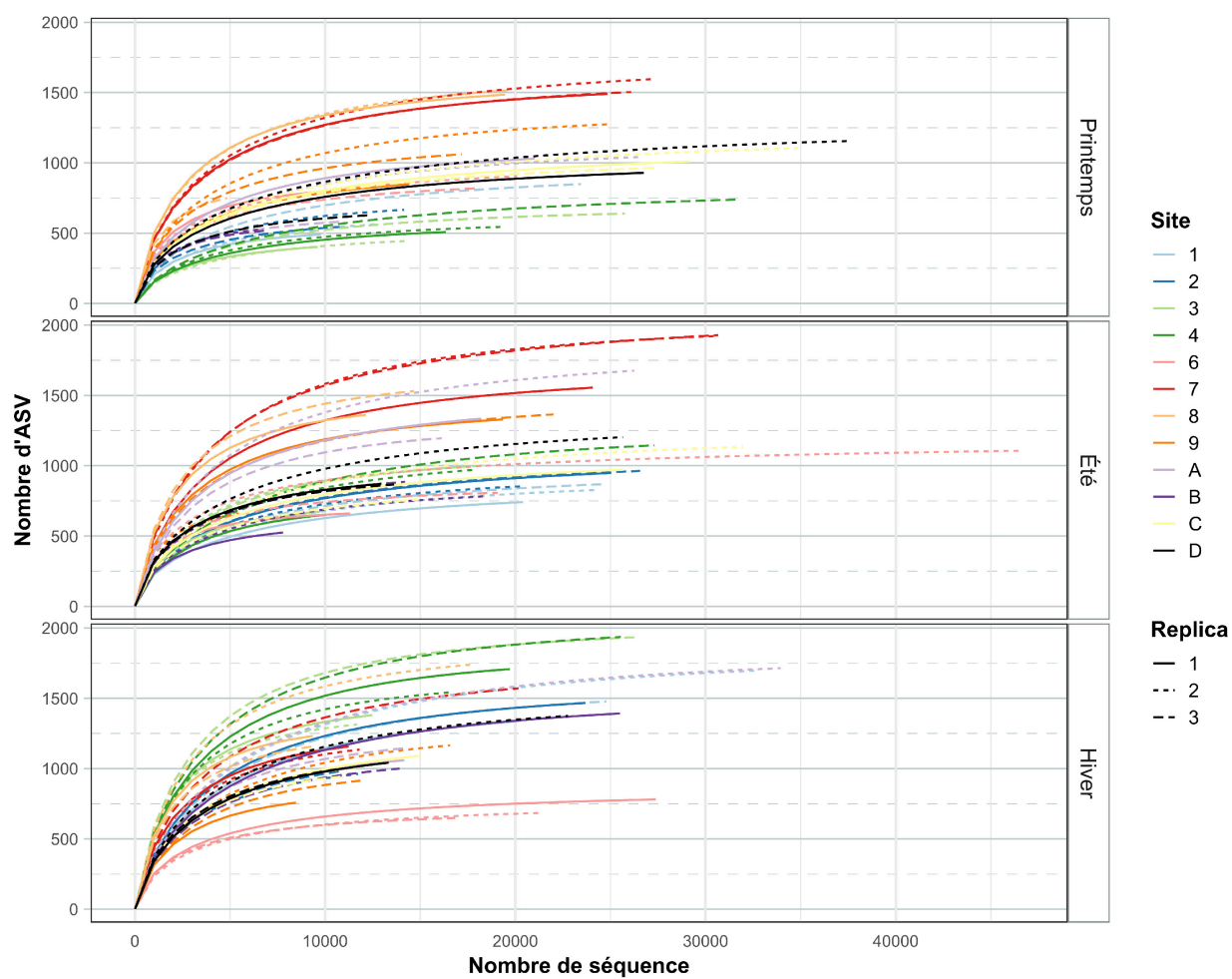


FIGURE A5.1 – Courbe de raréfaction pour les échantillons d'eau correspondant aux microorganismes attachés aux particules (PA).

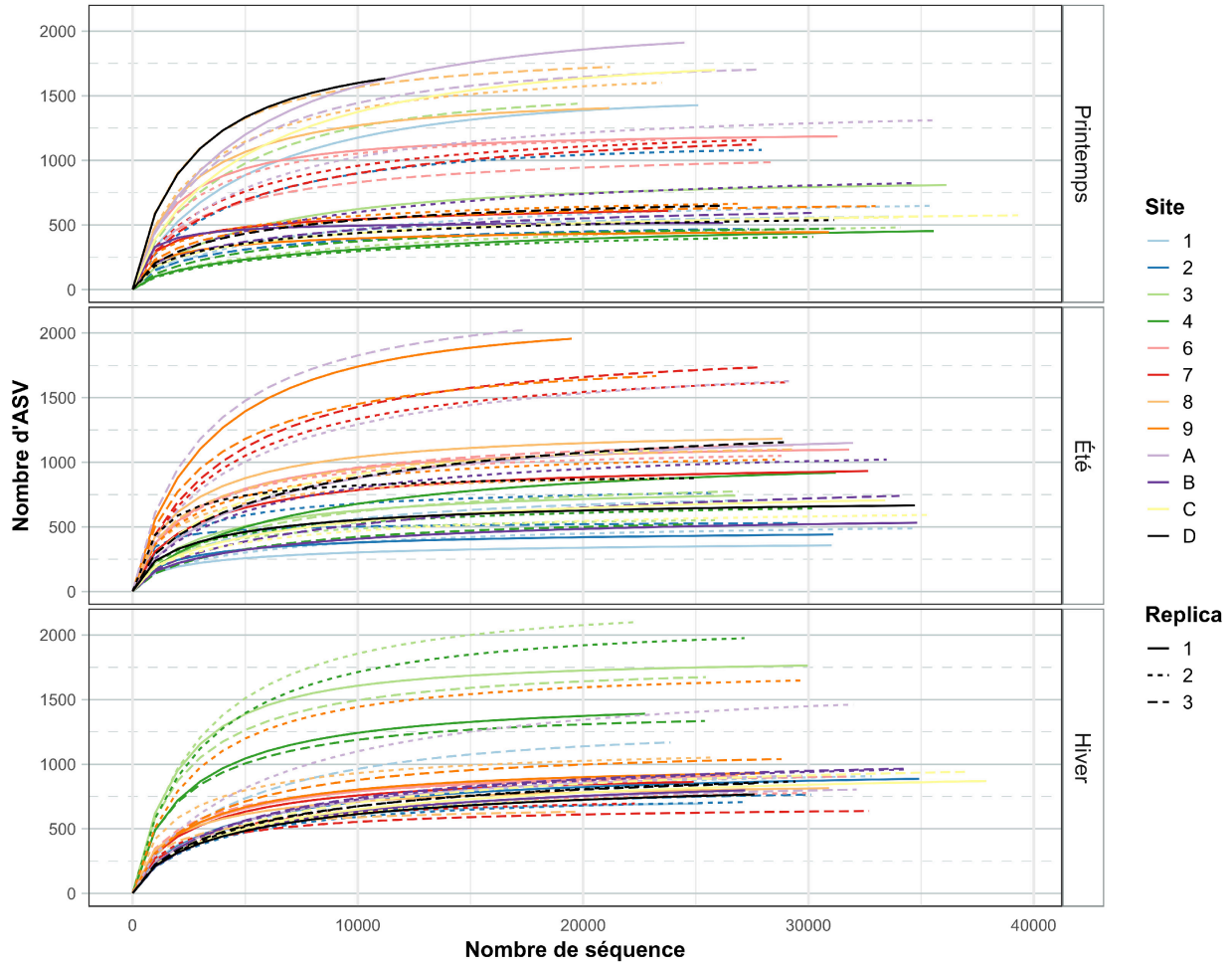


FIGURE A5.2 – Courbe de raréfaction pour les échantillons d’eau correspondant aux microorganismes libres dans la colonne d’eau (FL).

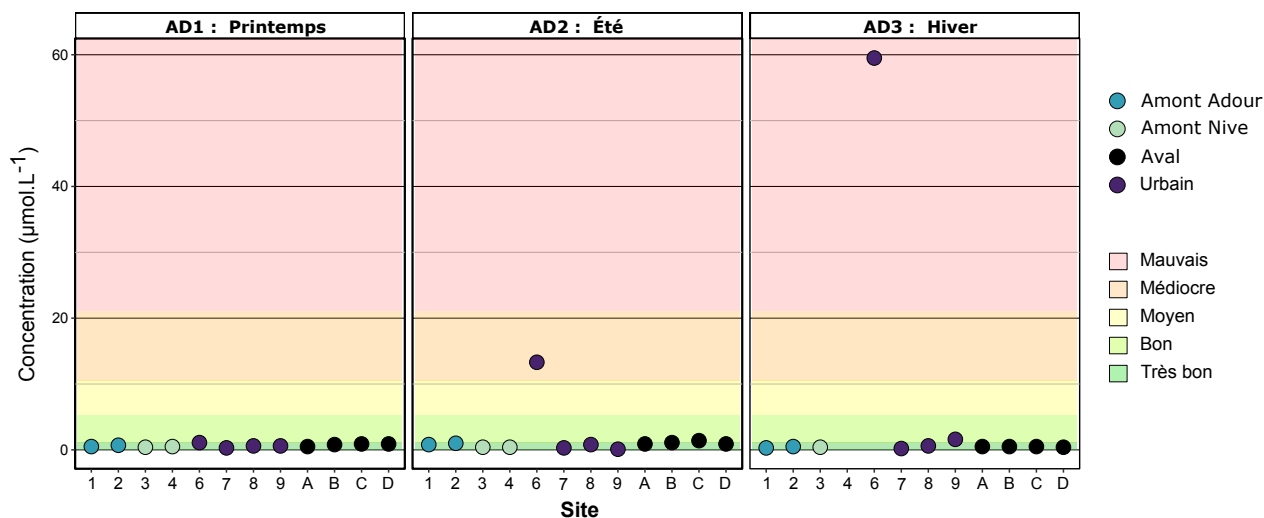


FIGURE A5.3 – Concentrations en phosphate dissous (PO_4^{3-} en $\mu\text{mol.L}^{-1}$) dans l'estuaire de l'Adour. Les couleurs indiquées au dernier plan correspondent aux normes de la DCE décrites dans l'arrêté du 27/07/15.

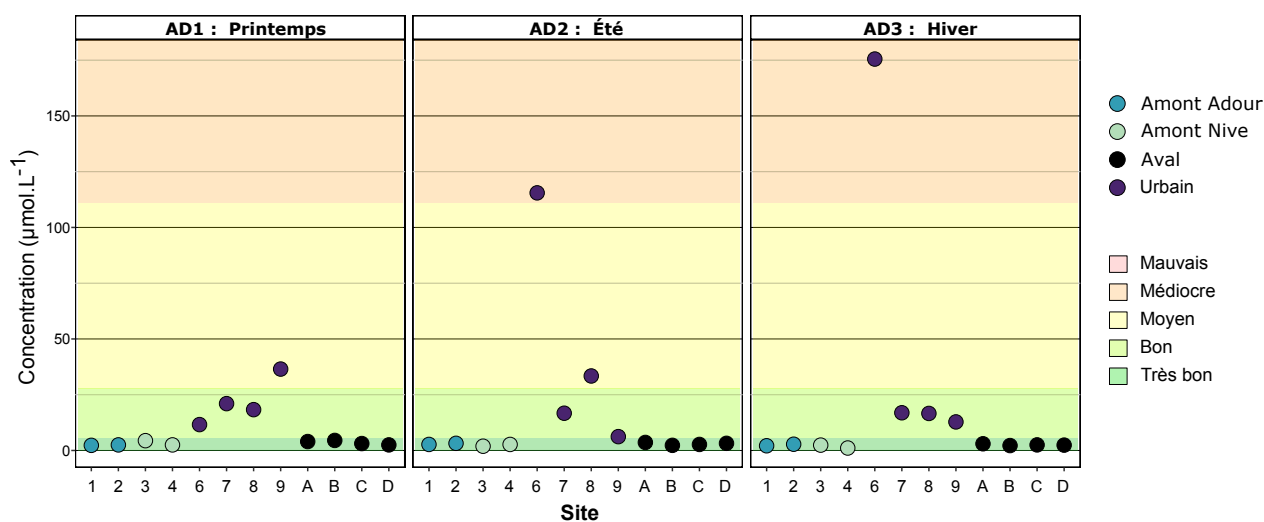


FIGURE A5.4 – Concentrations en ammonium dissous (NH_4^+ en $\mu\text{mol.L}^{-1}$) dans l'estuaire de l'Adour. Les couleurs indiquées au dernier plan correspondent aux normes de la DCE décrites dans l'arrêté du 27/07/15.

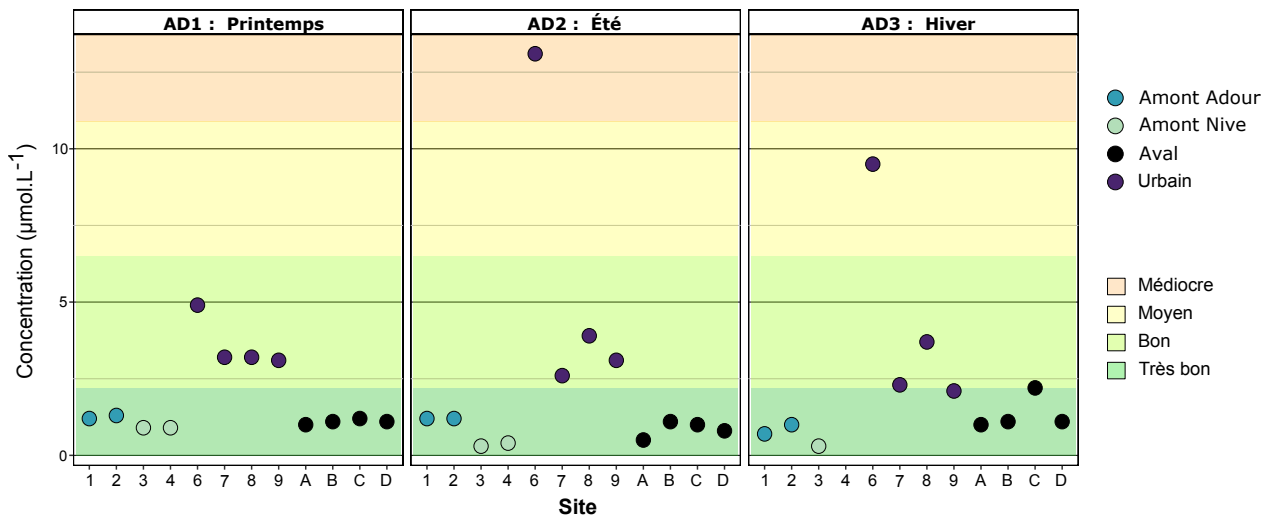


FIGURE A5.5 – Concentrations en nitrite dissoute (NO_2^- en $\mu\text{mol.L}^{-1}$) dans l'estuaire de l'Adour. Les couleurs indiquées au dernier plan correspondent aux normes de la DCE décrites dans l'arrêté du 27/07/15.

Valeurs des paramètres topographiques pour le réseau empirique

	PA, toutes saisons confondues	FL, toutes saisons confondues
Taille du réseau (n)	241	258
R^2 de la loi de puissance	0,844	0,908
Degré moyen (avgK)	4,705	4,411
Distance moyenne du chemin (GD)	5,603	4,657
Coefficient de regroupement moyen (avgCC)	0,349	0,221
Modularité (M)	0,759	0,653

Valeurs des paramètres topographiques pour 100 réseaux aléatoires

Distance moyenne du chemin (GD)	$3,575 \pm 0,043$	$3,547 \pm 0,053$
Coefficient de regroupement moyen (avgCC)	$0,033 \pm 0,007$	$0,055 \pm 0,010$
Modularité (M)	$0,432 \pm 0,008$	$0,440 \pm 0,007$

TABLEAU A5.1 – Paramètres topologiques du réseau empirique et des réseaux aléatoires associés des communautés microbiennes des eaux (PA et FL) de l'estuaire de l'Adour.

4 Publications

‘Microbial community structure in estuarine sediments exposed to geochemical gradients and micropollutants’.

Veloso, S., Amouroux, D., Lanceleur, L., Laureau, C. C., Monperrus, M., Deborde J., Duran, R.

Articles **en cours de soumission** à *Science of the Total Environment*.

Tamburini, C., Garel, M., Barani, A., Boeuf, D., Bonin, P., Bhairy, N., Guasco, S., Jacquet, S., Le Moigne F. A. C., Panagiotopoulos, C., Riou, V., Veloso, S., Santinelli, C., Armougom, F., 2021. Increasing Hydrostatic Pressure Impacts the Prokaryotic Diversity during *Emiliana huxleyi* Aggregates Degradation. **Water** 2021, *13*, 2616. <https://doi.org/10.3390/w13192616>

5 Conférences

Conférence : **XVIth International Symposium on Oceanography of the Bay of Biscay (ISOBAY 16)**

Auteur(s) : *S. Veloso*, C. Cravo-Larreau, C. Cagnon, D. Amouroux, L. Lanceleur, M. Monperrus, E. Tessier, J. Deborde, R. Duran

Type : Poster

Lieu : Anglet (France)

Titre : ‘Spatial and temporal patterns in prokaryotic community composition of the Adour Estuary (SW France)’

Conférence : **XVIth International Symposium on Oceanography of the Bay of Biscay (ISOBAY 16)**

Auteur(s) : *S. Veloso*, L. Lanceleur, E. Tessier, C. Mosses, J. Deborde, A. Romero Rama, A. Gueux, M. Monperrus, R. Duran, D. Amouroux

Type : Poster

Lieu : Anglet (France)

Titre : ‘Spatial distribution of micropollutants in surface waters of the Adour Estuary (Bay of Biscay, SW France)’

Conférence : **XVIth International Symposium on Oceanography of the Bay of Biscay (ISOBAY 16)**

Auteur(s) : *A. Romero Rama*, M. Bueno, E. Tessier, S. Veloso, L. Lanceleur, D. Amouroux

Type : Poster

Lieu : Anglet (France)

Titre : 'Selenium Speciation in Adour Estuarine Waters (Bay of Biscay)'

Conférence : **VIIIème colloque AFEM**

Auteur(s) : *S. Veloso*, L. Lanceleur, E. Tessier, C. Cravo-Larreau, C. Cagnon, B. Lauga, D. Amouroux, R. Duran

Type : Poster

Lieu : Camaret sur mer (France)

Titre : « Impact des micropolluants sur les communautés microbiennes de l'estuaire de l'Adour (Côte Atlantique) »

Conférence : **5th IMBeR IMBIZO**

Auteur(s) : *C. Tamburini*, S. Veloso, F. Armougom, N. Bhairy, M. Garel, S. Guasco, V. Riou, C. Santinelli, P. Bonin

Type : Poster

Lieu : Woods Hole (USA)

Titre : 'Biodegradation of *Emiliana huxleyi* aggregates by Mediterranean and Atlantic prokaryotic communities under increasing hydrostatic pressure.'

6 Autres communications

Pôle CME conference

Date : 23 mai 2019

Titre : 'Micropollutants in the Adour estuary : Suspected impact on the microorganisms'

Auteur(s) : *S. Veloso*

Type : Conférence intralaboratoire

Lieu : IPREM (UPPA), Pau (France)

Journées de l'école doctorale : Présentation de 3^{ème} année

Date : 20 mai 2019

Titre : 'Micropollutants in the Adour estuary : Suspected impact on the microorganisms'

Auteur(s) : *S. Veloso*

Type : Conférence intralaboratoire

Lieu : UPPA, Pau (France)

Conférence dans le cadre d'un échange interlaboratoire

Date : 13 novembre 2018

Titre : 'Micropollutants under Adour estuary : State of knowledge and suspected impact under the microorganisms'

Auteur(s) : *S. Veloso*

Type : Conférence interlaboratoire

Lieu : CIMAV (Centro de Investigación en Materiales Avanzados), Chihuahua (Mexico)

Café-séminaire de l'IPREM

Date : 22 juin 2018

Titre : « Les micropolluants dans l'estuaire de l'Adour : Etat des connaissances et impacts suspectés sur les microorganismes »

Auteur(s) : *S. Veloso*

Type : Conférence intralaboratoire

Lieu : IPREM (UPPA), Pau (France)

7 Résumé

Les zones estuariennes représentent des écosystèmes uniques et complexes, ce sont des écotones s'étendant entre les milieux marin et dulcicole. Ces zones sont caractérisées par une importante biodiversité, ainsi qu'une très forte hétérogénéité de paramètres environnementaux majeurs. Par ailleurs, au-delà de leur naturelle variabilité et sensibilité, les estuaires sont exposés à de fortes et croissantes pressions anthropiques. Au cours de trois campagnes d'échantillonnages, ciblant différentes saisons, des prélèvements de sédiments de surface et les eaux de sub-surface ont été collectés le long de l'estuaire de l'Adour (Sud-ouest, France), de la limite d'intrusion marine à l'embouchure.

Dans ce contexte, la composition et la structuration des communautés microbiennes ont été définies à partir d'un séquençage haut débit des gènes ARNr 16S, et leurs fonctions évaluées à l'aide de puces à ADN. Ces profils microbiens ont été combinés à un large éventail d'analyses chimiques caractérisant la matière organique et ciblant sept catégories de micropolluants majeurs, incluant les métaux (et organométaux), hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), polychlorobiphényles (PCB), pesticides, muscs, filtres UV, alkylphénols et les substances pharmaceutiques, comptabilisant au total plus 130 composés.

La grande majorité de micropolluants a été détectée au moins à une reprise dans l'estuaire de l'Adour, bien que les concentrations observées étaient inférieures aux normes environnementales. Les sédiments se comportent comme une matrice intégratrice, un réservoir de contamination : l'occurrence et la diversité des contaminants y sont particulièrement remarquable. Une majorité des micropolluants, dont les émergents, ont été identifiés aux abords des stations de traitement des eaux (STE) montrant l'apport de micropolluants par les STE en milieu estuarien. La structuration des communautés microbiennes est fortement dépendante de la matrice, les communautés microbiennes des sédiments ont une organisation plus stable que celles retrouvées dans l'eau. Quelle que soit la matrice, la saison et la position le long de l'estuaire sont les facteurs majeurs influençant les assemblages microbiens. Néanmoins, plus localement, la présence de micropolluants ou la proximité des STE influent sur les communautés microbiennes. Ainsi, nos travaux révèlent une corrélation entre la présence de micropolluants (dont l'arsenic, le manganèse, et deux antibiotiques) et les communautés microbiennes. Dans les eaux, une cohorte microbienne issue de la matière fécale a été caractérisée à proximité des STE, révélant des taxa jouant un rôle majeur dans l'organisation des communautés microbiennes.

Mots-clefs : estuaires ; micropolluants ; séquençage ; biodiversité ; biodiversité fonctionnelle ; communautés microbiennes ; variation saisonnière

8 Abstract

Estuarine areas represent unique and complex ecosystems, they are ecotones extending between marine and freshwater environments. They are characterized by an important biodiversity, as well as a very strong heterogeneity of major environmental parameters. Beyond their natural variability and sensitivity, estuaries are threatened by continuously increasing anthropogenic pressures. During three sampling campaigns, performed at different seasons, samples were collected from surface sediments and sub-surface water along the Adour estuary (South-West, France), from the marine intrusion limit at the mouth.

In this context, the composition and structure of microbial communities have been defined using 16S rRNA gene sequencing, and their functional diversity by DNA chips analysis. The microbial profiles were combined with a large range of chemical analyzes characterizing the organic matter, and targeting seven categories of major micropollutants, including metals (and organometals), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs), pesticides, musks, UV filters, alkylphenols and pharmaceutical substances, representing more than 130 compounds.

A large majority of the micropollutants were detected at least once in the Adour estuary, although with concentrations below environmental guidelines. Sediments behave like an integrating matrix, a contamination reservoir, where occurrence and diversity of micropollutants are particularly remarkable. A majority of micropollutants, including emerging micropollutants, were identified near water treatment plants (WWTPs), showing the input of pollutants by WWTP into estuarine ecosystems.

The organization of microbial community is strongly dependent on the matrix, the microbial community structures inhabiting sediments are more stable than that of microbial community inhabiting the water column. Nevertheless, the season and the position along the estuary were found to be the major factors influencing microbial assemblages irrespective of the matrix. However, the presence of micropollutants or the proximity of STEs influence the local organization of microbial communities.

Our study revealed a strong correlation between the presence of micropollutants (including As, Mn, and two antibiotics) and microbial communities. In the waters, a microbial cohort derived from fecal matter input was characterized near WWTPs, revealing taxa playing a key role in the organization of the microbial communities.

Key words : estuaries; micropollutants; sequencing; biodiversity; functional diversity; microbial communities; seasonal variation

Résumé

Les zones estuariennes représentent des écosystèmes uniques et complexes, ce sont des écotones s'étendant entre les milieux marin et dulcicole. Ces zones sont caractérisées par une importante biodiversité, ainsi qu'une très forte hétérogénéité de paramètres environnementaux majeurs. Par ailleurs, au-delà de leur naturelle variabilité et sensibilité, les estuaires sont exposés à de fortes et croissantes pressions anthropiques. Au cours de trois campagnes d'échantillonnages, ciblant différentes saisons, des prélèvements de sédiments de surface et les eaux de sub-surface ont été collectés le long de l'estuaire de l'Adour (Sud-ouest, France), de la limite d'intrusion marine à l'embouchure. Dans ce contexte, la composition et la structuration des communautés microbiennes ont été définies à partir d'un séquençage haut débit des gènes ARNr 16S, et leurs fonctions évaluées à l'aide de puces à ADN. Ces profils microbiens ont été combinés à un large éventail d'analyses chimiques caractérisant la matière organique et ciblant sept catégories de micropolluants majeurs, incluant les métaux (et organométaux), hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), polychlorobiphényles (PCB), pesticides, muscs, filtres UV, alkylphénols et les substances pharmaceutiques, comptabilisant au total plus de 130 composés. La grande majorité de micropolluants a été détectée au moins à une reprise dans l'estuaire de l'Adour, bien que les concentrations observées étaient inférieures aux normes environnementales. Les sédiments se comportent comme une matrice intégratrice, un réservoir de contamination : l'occurrence et la diversité des contaminants y sont particulièrement remarquable. Une majorité des micropolluants, dont les émergents, ont été identifiés aux abords des stations de traitement des eaux (STE) montrant l'apport de micropolluants par les STE en milieu estuarien. La structuration des communautés microbiennes est fortement dépendante de la matrice, les communautés microbiennes des sédiments ont une organisation plus stable que celles retrouvées dans l'eau. Quelle que soit la matrice, la saison et la position le long de l'estuaire sont les facteurs majeurs influençant les assemblages microbiens. Néanmoins, plus localement, la présence de micropolluants ou la proximité des STE influent sur les communautés microbiennes. Ainsi, nos travaux révèlent une corrélation entre la présence de micropolluants (dont l'arsenic, le manganèse, et deux antibiotiques) et les communautés microbiennes. Dans les eaux, une cohorte microbienne issue de la matière fécale a été caractérisée à proximité des STE, révélant des taxa jouant un rôle majeur dans l'organisation des communautés microbiennes.

Mots-clés : estuaires ; micropolluants ; séquençage ; biodiversité ; biodiversité fonctionnelle ; communautés microbiennes ; variation saisonnière

Abstract

Estuarine areas represent unique and complex ecosystems, they are ecotones extending between marine and freshwater environments. They are characterized by an important biodiversity, as well as a very strong heterogeneity of major environmental parameters. Beyond their natural variability and sensitivity, estuaries are threatened by continuously increasing anthropogenic pressures. During three sampling campaigns, performed at different seasons, samples were collected from surface sediments and sub-surface water along the Adour estuary (South-West, France), from the marine intrusion limit at the mouth. In this context, the composition and structure of microbial communities have been defined using 16S rRNA gene sequencing, and their functional diversity by DNA chips analysis. The microbial profiles were combined with a large range of chemical analyzes characterizing the organic matter, and targeting seven categories of major micropollutants, including metals (and organometals), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs), pesticides, musks, UV filters, alkylphenols and pharmaceutical substances, representing more than 130 compounds. A large majority of the micropollutants were detected at least once in the Adour estuary, although with concentrations below environmental guidelines. Sediments behave like an integrating matrix, a contamination reservoir, where occurrence and diversity of micropollutants are particularly remarkable. A majority of micropollutants, including emerging micropollutants, were identified near water treatment plants (WWTPs), showing the input of pollutants by WWTP into estuarine ecosystems. The organization of microbial community is strongly dependent on the matrix, the microbial community structures inhabiting sediments are more stable than that of microbial community inhabiting the water column. Nevertheless, the season and the position along the estuary were found to be the major factors influencing microbial assemblages irrespective of the matrix. However, the presence of micropollutants or the proximity of STEs influence the local organization of microbial communities. Our study revealed a strong correlation between the presence of micropollutants (including As, Mn, and two antibiotics) and microbial communities. In the waters, a microbial cohort derived from fecal matter input was characterized near WWTPs, revealing taxa playing a key role in the organization of the microbial communities.

Keywords: estuaries; micropollutants; sequencing; biodiversity; functional diversity; microbial communities; seasonal variation